

Atualização na Farmacogenética da Diabetes

D. Maia Pinto¹, M. C. Rosamond Pinto²

1- Monitor do Instituto de Anatomia, Faculdade de Medicina de Lisboa.

2- Especialista em Genética Médica, PhD em Genética Molecular, Faculdade de Medicina de Lisboa. Fellow of the American College of Medical Genetics. Research Professor, Department of Endocrinology and Metabolism, University of Miami, USA.

Resumo

A diabetes *mellitus* é a mais corrente das doenças metabólicas afectando mundialmente cerca de 160 milhões de indivíduos. A diabetes tipo 2 não insulino dependente é responsável por cerca de 90% de todos os casos de diabetes. É necessária uma melhor compreensão da base molecular da doença de modo a implementar novas tecnologias. A diabetes desenvolve-se pela falência da regulação do nível da glicémia em diversos tecidos. A insulina é produzida no pâncreas em resposta à hiperglicémia e liga-se ao receptor da insulina (IR) tendo como alvo vários tecidos e desencadeando uma cascata de sinais derivados do IR. Subsequentemente o IR activado actua nas proteínas de sinalização descendente no citoplasma celular. Os Autores focam estudos recentes destacando a função das enzimas PTPs (fostases proteína tirosina). É também referido o facto do stress do retículo endoplasmático (RE) ser primordial na patogénese da diabetes. O stress RE também está implicado na relação da diabetes tipo 2 insulino resistente com o estado ponderal. As dietas hipercalóricas induzem o stress do RE hepático suprimindo a sinalização da insulina via activação das cinases jun N-terminais (JNK). O ER contribui ainda para a apoptose das células β induzida pelas citocinas em situação de stress. É evidenciado o papel dos PPARs (*peroxisome proliferator-activated receptors*) na regulação do armazenamento e catabolismo das gorduras dietéticas, com destaque para os agonistas PPAR γ actuando eficazmente como agentes anti-diabéticos. Outros estudos experimentais referem as Sirtuínas tendo como alvo terapêutico doenças específicas. A SIRT1 actua como um sensor ligado ao stress celular, quer esse stress se traduza pela degradação do ADN, stress oxidativo ou stress ligado à hiperglicémia. Refere-se também a função da acil-diacil-glicerol-transferase (DGAT1) como uma enzima chave catalizando a síntese dos triglicéridos. Os inibidores DGAT1 tem um efeito evidente na função normal da insulina. São focadas outras linhas de investigação destacando a função dos receptores acoplados às proteínas-G (GPCRs), evidenciando-se neste contexto a molécula GPR119 actuando como um agente inverso que aumenta o AMP cíclico nas células pancreáticas produtoras de insulina. Esta molécula é igualmente expressa nas células endócrinas intestinais estimulando a libertação de GLP1, CIP e PYY, sendo reconhecida a função destas hormonas na regulação da homeostase da glicose. Nos considerandos finais os Autores referem-se aos estudos experimentais com vista ao desenvolvimento de novos fármacos que não só incidam sobre a sintomatologia das doenças metabólicas mas que tenham igualmente um papel relevante na paragem da progressão da doença.

Abstract

Diabetes *mellitus* is the most common metabolic disease, affecting over 156 million people around the world. More than 90% of all diabetic cases are accounted by type 2 non insulin dependent diabetes *mellitus*. In order to generate new therapies a more complete understanding of the molecular basis of the disease is needed. Diabetes develops due to a failure to regulate glucose level in the blood involving various tissues in their regulation. Insulin is produced by the pancreas to respond to elevation in blood glucose levels. Insulin binds to the insulin receptor (IR) and targets the tissues within the cascade of signals derived from its receptor. Subsequently the activated IR acts on signalling proteins downstream in the cytoplasm. The Authors focus on the latest studies implicating PPTs (protein tyrosine phosphatases) enzymes. The fact that endoplasmic reticulum (ER) plays a role in diabetic pathogenesis is also focused. ER stress also links insulin resistance in type 2 diabetes and obesity. High fat diets induce liver ER stress suppressing insulin signalling via JNK (Jun N-terminal kinase) activator and the ER stress contributes to cytokine induced β -cell death. The role of peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) in the regulation storage and catabolism of dietary fats is also referred. Special emphasis is given to PPAR γ agonists as efficacious anti diabetic agents. Other experimental studies regard the developing of Sirtuins as potential therapeutic targets. SIRT1 is a stress related sensor only active in cellular stress – DNA damage, oxidative stress or stress related to increased glucose levels. Modified lipid biosynthesis is detailed referring DGAT1 (diacyl glycerol acyl transferase) as the enzyme that catalysis the triglyceride synthesis. DGAT1 inhibitors have a profound effect on normal functioning of insulin action. Other ongoing research accounts for the role of GPCRs (G protein coupled receptors) and the leading molecular GPR119 acting as an inverse agonist. This molecule increases cyclic AMP in insulin producing pancreatic cells. GPR119 is expressed in the pancreas and in the intestinal endocrine cells stimulating the release of GLP, GIP and PYY. Final remarks emphasise the role of new evolving therapeutics that may not only address the symptoms of metabolic diseases but bring to a halt the disease progression.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novas terapias tendo como alvo a diabetes entre outras doenças metabólicas é considerado

prioritário pelas diversas empresas de Biotecnologia. Dados casuísticos recentes da Associação Americana da Diabetes referem que existem cerca de vinte e quatro milhões de Americanos com diabetes. Acresce o facto de que aproximadamente 32% de Americanos adultos são clinicamente obesos. Vários laboratórios farmacêuticos trabalham na charneira deste mercado que cresce de forma exponencial, tendo apresentado os últimos progressos obtidos no Congresso que decorreu neste ano em São Francisco (USA) designado de *Groundbreaking Advances and Key Opinions in*

Correspondência:

Professora Doutora Maria Cristina Rosamond Pinto
Rua Amílcar Cabral, N° 21 – R/C “H”
1750-018 Lisboa
Tl.m.: +351 967328084
E-mail: genética_medica@hotmail.com

Metabolic Diseases and Drug Discovery and Development. Estas empresas focam essencialmente os aspectos biológicos responsáveis pela progressão da doença. Foi enfatizado o papel do stress decorrente no retículo endoplasmático (RE) e das vias inflamatórias. Está já comprovado que a capacidade funcional do RE é importante na evolução patológica. Caso haja um compromisso da capacidade ou homeostase do RE as vias metabólicas co-relacionadas terão um efeito negativo na insulina dos tecidos periféricos, sendo igualmente afectada a função macrófágica. Desta forma, a modulação do RE acarreta benefícios terapêuticos em múltiplas situações metabólicas. Estudos experimentais demonstraram que com a melhoria do stress celular observam-se efeitos anti-diabéticos e anti-ateroscleróticos muito relevantes. Tem sido ainda possível monitorizar a capacidade adaptativa funcional do RE com a finalidade de identificar pequenas biomoléculas que incrementem a sua função. Outros estudos incidem sobre as cinases do stress como a JNK (C-jun-N-terminal) que desempenham um papel crítico na diabetes tipo 2, bem como noutras doenças metabólicas. Foi recentemente descrita uma modulação alostérica desta cinase tendo como alvo o local de ancoragem da enzima em vez da clássica ligação ATP, evitando, deste modo, os problemas resultantes de reacções cruzadas (Figura 1).

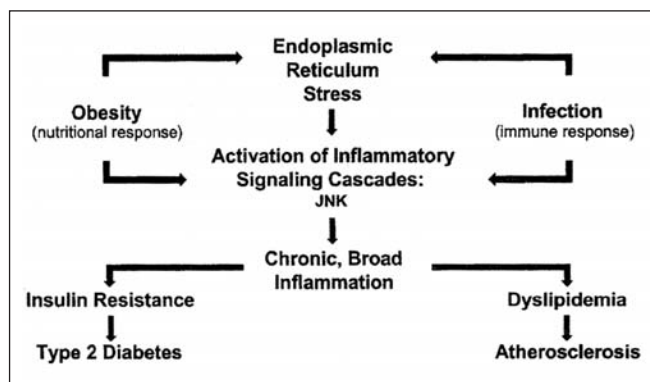


Figura 1 - Activação das vias da sinalização metabólicas sobrepostas que provocam um aumento do stress no RE bem como a actividade da JNK, que desempenha um papel importante na promoção da diabetes tipo 2 e aterosclerose.

Existe uma resistência das células à insulina na diabetes tipo 2 e a respectiva fisiopatologia implica uma rede complicada de vias celulares, iniciando-se a via metabólica quando a insulina se liga ao receptor de insulina desencadeando outros sinais de sinalização que produzem resistência aos efeitos da insulina.

A VIA METABÓLICA DA INSULINA

A insulina é um péptido hormonal anabólico produzido pelas células, dos ilhéus pancreáticos. A insulina constitui a chave essencial da regulação da glicose plasmática mantendo o equilíbrio entre a absorção intestinal, a pro-

dução hepática, a captação celular da glicose e o seu metabolismo nos tecidos periféricos^(1,2).

O receptor de insulina (IR) faz parte de uma família de receptores das tirosinas cinase (RTKs) que englobam o factor de crescimento tipo insulina (IGF-I) e o receptor de insulina tipo co-receptor (IRR). O IR é uma glicoproteína com duas subunidades α e duas subunidades β . As subunidades α encontram-se fora da membrana celular e estão ligadas por pontes bissulfito às β subunidades embebidas na membrana plasmática. A insulina actua ligando-se à superfície do IR e activando o receptor intrínseco da tirosina cinase. Ocorrem em seguida a auto-fosforilação do receptor e a fosforilação de vários substratos que, por sua vez, facultam os locais de ancoragem para a ligação de várias moléculas da sinalização decorrente a jusante, incluindo os quatro receptores proteicos da insulina (IRS-1, IRS-2, IRS-3, IRS-4), o CBL, o GBR2, o p60^{dok} e o Shc. A ligação destas proteínas leva a novas activações de moléculas da sinalização na via metabólica descendente, desencadeando a cascata da proteína cinase activadora mitogénica (MAPK) e a activação de outras proteínas cinase serina/treonina (Akt, GSK3, PKC, MTOR) e da fosfoinositídeo-3-cinase (PI3K). Ocorre um controlo da via da sinalização da insulina quando os locais serina do IR e dos seus substratos são desfosforilados pelas proteínas fosfatases^(3,4). Decorre também a fosforilação da cinase serina/treonina PKB/Akt com a consequente regulação dos componentes do complexo 4 do transportador da glicose (GLUT 4), da proteína cinase C (PKC), da cinase 3 da síntese do glicogénio (GSK-3) e da cinase p70S6. A ligação PKB/Akt é essencial para função da insulina através do controlo da translocação GLUT4, da síntese do glicogénio e da síntese proteica. A cinase p70S6 tem um papel regulador chave da acção promotora do aumento da insulina.

A PKC β (isoforma da PKC) é ainda um alvo para a prevenção da nefropatia diabética que é a principal causa de doença renal no estágio terminal⁽⁵⁾. Em modelos animais, a diabetes induzida experimentalmente ocorre em ratinhos tratados com estreptozotocina (STZ-rat e STZ-Rem 2 rat) bem como no ratinho Lep^{r^{db/db}} (receptores da leptina db/db). O tratamento com os inibidores selectivos PKC, conduz à melhoria da hiperfiltração glomerular e redução da albuminúria. A fosfatase-tensina PTEN (Figura 2), mapeada ao cromosso-

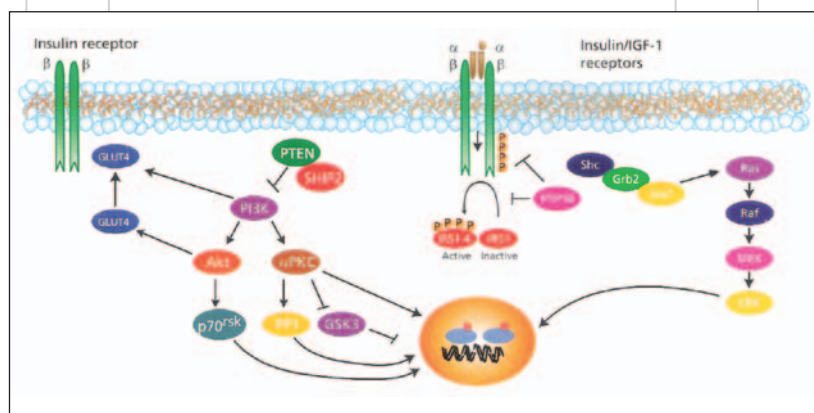


Figura 2 - Via de sinalização metabólica da insulina.

ma 10 é uma fosfatase essencial para a molécula PIP3 regulando negativamente a sinalização descendente da insulina. A produção das cinases fosfoinositídiás PI, PIP2 e PIP3 bem como a activação da cinase/treonina AKt é inibida pela hiperexpressão celular da PTEN. A micro-injecção de anticorpos anti-PTEN ⁽⁴⁾ conduz a um aumento da insulina basal bem como da insulina estimulada pela translocação do complexo 4 transportador de glicose (GLUT 4). As deleções cromossómicas da PTEN produzem uma elevação na síntese de ácidos gordos com aumento funcional da insulina hepática e melhoria da tolerância à glicose ⁽⁶⁾.

A cinase 3 da sintase do glicogénio (GSK-3) é o principal substrato fisiológico para as cinases serina-treonina PKB/Akt, sendo a sua actividade inibida pela mediação de fosforilação do complexo PKB/Akt em resposta à estimulação por factor de crescimento. A inibição da GSK-3 conduz à modulação de múltiplos processos celulares regulados pelo GSK-3 incluindo a síntese de glicogénio no músculo esquelético, a síntese das células neuronais e a melhoria da hiperglicémia através do aumento da síntese do glicogénio ⁽⁷⁾.

FUNÇÃO DAS PROTEÍNAS TIROSINA FOSFATASES (PTPs)

Tem sido demonstrado que as PTPs (PTP α , PTP ϵ , PTP-LAR, PTPIB e SHIP-2) são reguladores negativos da sinalização da insulina, promovendo a desfosforilação do IR e das proteínas IRS através da remoção das tirosinas fosforiladas. Ratinhos geneticamente modificados com ausência da PTPIB demonstraram um aumento da sensibilidade à insulina e uma resistência à obesidade ⁽⁸⁾. A utilização de oligonucleotídeos “anti-sense” contra a PTPIB tem confirmado o seu papel na sinalização do receptor da insulina e na homeostase da glicose. O tratamento com a rosiglitazona, agente sensibilizante da insulina e agonista PPAR γ , tem demonstrado uma redução do aumento da expressão génica de SHIP-2 no músculo esquelético e no tecido adiposo do ratinho db/db ⁽⁹⁾.

RECEPTORES ACTIVADORES DA PROLIFERAÇÃO DOS PEROXISTEMAS (PPARs)

Os PPARs (α , δ , e γ) são membros de uma família de receptores nucleares que desempenham uma função na regulação do armazenamento e catabolismo das gorduras dietéticas, ligando-se aos ácidos gordos e seus metabolitos e regulando a expressão génica responsável pelo transporte e metabolismo desta moléculas intracelularmente. Os agonistas PPAR γ são agentes antidiabéticos eficazes designados por glitazonas que reduzem os níveis da glicemia plasmática, dos lípidos e da insulina na diabetes tipo 2 ⁽¹⁰⁾. A activação do PPAR γ nos adipocitos suprime a secreção de moléculas hormonais sinalizadoras como o TNF α e a leptina que influenciam a resistência à insulina. Os agonistas PPAR γ reduzem os ácidos gordos livres circulantes afectando indirectamente os níveis de glicemia por vias metabólicas que relacionam o metabolismo dos hidratos de carbono e dos lípidos. Deste modo o tratamento com agonistas PPAR γ aumentam

a expressão de numerosos genes implicados na lipogénese, promovendo o transporte de glicose e ácidos gordos para o tecido adiposo, o que resulta no aumento da utilização de glicose no músculo esquelético e redução da gliconeogénese hepática ⁽¹¹⁾.

SIRTUINAS

As sirtuinas são uma família de proteínas homólogas que inclui as proteínas des-acetilases dependentes de NAD⁺ que desacetilam as proteínas catalisando a formação de n-acetiladp-ribose a partir da porção de ADP-RIBOSE (do NAD) e do grupo acetil que está sendo removido da proteína. Recentemente as sirtuinas dos mamíferos têm sido ligadas a um círculo cada vez mais amplo de actividades que englobam resistência ao stress celular, estabilidade genómica, génese tumoral e metabolismo energético ⁽¹²⁾. As actividades biológicas das proteínas sirtuinas des-acetilases são responsáveis pelo prolongamento da vida, aumento da estabilidade genómica, transcrição e controlo da segregação de proteínas oxidadas entre células mãe e filha. As sirtuinas proteína diacilases são membros da família SIR2 e incluem a SIR2 do fermento, a SIR-2.1 e as proteínas humanas SIRT1 e SIRT2. Os nucleótidos e sequências de aminoácidos da sirtuina humana SIRT1 são definidos como SEQ ID n^o 1 e 2 (números de adesão Gen Bank NM_012238 e NM_036370, respectivamente). Outros membros da família incluem as quatro sirtuinas 2 formando-se proteínas adicionais como os genes denominados “TGV” (homologos de SIR2): HST1, HST2, HST3, HST4 bem como outros seus homólogos humanos: hSIRT2, hSIRT3, hSIRT4, hSIRT5, hSIRT6, hSIRT7. As composições farmacológicas sirtuinas podem ser administradas em indivíduos para o tratamento de doenças crónicas com o objectivo de proteger a célula da morte celular. Incluem-se doenças associadas com a morte neuronal (neurodegenerativas, como a doença de Parkinson ou doença de Alzheimer) e/ou morte de células musculares como a esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, distrofia muscular (AIDS), hepatite fulminante, retinite pigmentosa, mielodisplasias, doenças isquémicas como o enfarte do miocárdio e o acidente vascular cerebral, doenças hepáticas (hepatite alcoólica, B e C), osteoartrite, aterosclerose, doenças cardiovasculares e outras. Um agente ou factor refere-se a qualquer molécula ou complexo de moléculas, podendo ser um factor de crescimento, tal como o *insulin-like growth factor* (IGF-I) ou a insulina. As sirtuinas são usadas igualmente como agentes de prevenção ou tratamento do excesso de peso, obesidade, condições pré-diabéticas, resistência à insulina, hiperinsulinémia, hiper pró-insulinémia, atraso de libertação de insulina, dislipidémia, hiperglicémia, intolerância à glicose (diabetes, diabetes tipo 2, síndrome metabólica, síndrome X, retinopatia, neuropatia periférica, nefropatia, hipertensão e outras doenças das artérias coronárias - CADs).

A investigação na diabetes está focada na identificação de pequenos activadores moleculares que são estruturalmente diferentes do resveratrol. O resveratrol é um trihidroxiestilbeno encontrado principalmente em uvas e vinho tinto. Os

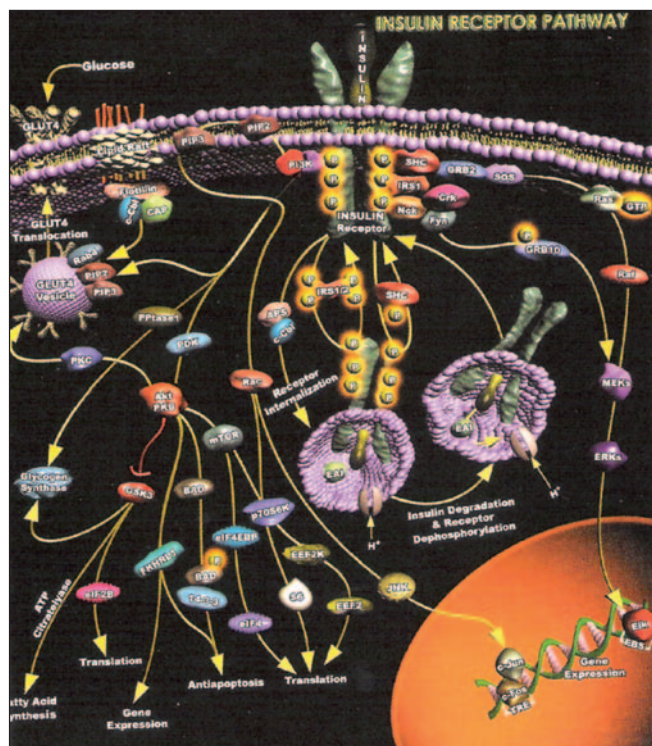


Figura 3 - Via da sinalização metabólica do receptor da insulina.

efeitos do resveratrol em amostras biológicas são de grande alcance como factor apoptóticos, agente anti-inflamatório e antioxidante ⁽¹³⁾. A SIRT 1 é efectivamente um sensor relacionado com o stress activando-se unicamente quando a célula está sujeita ao stress oxidativo, destruição do ADN ou stress relacionado com os níveis de glicemia. Os estudos experimentais decorrentes visam a definição de moduladores da SIRT1 para as doenças metabólicas, existindo todavia poucas moléculas pequenas susceptíveis de activar estas enzimas. Com base no conhecimento de que o resveratrol pode activar enzimáticamente o SIRT1, a biotecnologia tem desenvolvido ensaios para a triagem de bibliotecas químicas não só para definir moléculas que actuam como o resveratrol mas ainda que levem à activação específica da SIRT1. Algumas dessas moléculas têm sido estudadas em modelos pré clínicos na tentativa de compreender a relação da regulação da SIRT1 nos vários tipos celulares e o impacto das pequenas moléculas na activação da SIRT1 nas células, nos tecidos e no próprio modelo animal experimental. A SIRT1 encontra-se já na fase IIa de experimentação no que diz respeito à diabetes tipo 2, sendo expectáveis novos desafios na terapia desta situação metabólica.

INIBIÇÃO DA SÍNTESE DOS TRIGLICÉRIDOS

A diacilglicerolaciltransferase (DGAT1) é uma enzima que catalisa o estágio final na síntese dos triglicéridos. A vantagem dos inibidores DGAT1 é o seu potencial para efeitos alostéricos positivos nos níveis dos triglicéridos, particularmente no fígado com grande impacto na acção funcional da insulina e na utilização da glicose. Estudos experimentais demonstraram uma redução substancial no nível dos trigli-

céridos no fígado de roedores bem como uma melhoria da depuração plasmática. O recurso a uma dose única em voluntários saudáveis do sexo masculino demonstrou que estas previsões eram correctas. Com base nestes dados iniciais as companhias farmacêuticas (www.pfizer.com) planeiam estudos experimentais múltiplos. A investigação em ratinhos “knockout” demonstrou uma redução significativa dos níveis de triglicéridos no fígado, tecido adiposo e músculo esquelético. Os animais em questão perderam peso e tornaram-se resistentes à obesidade induzida por uma dieta hiperlipídica. Estes dados permitem antecipar um impacto não só no tratamento da obesidade como na terapia da diabetes.

OS RECEPTORES ACOPLADOS ÀS PROTEÍNAS G (GPCRs)

Desenvolvem-se várias linhas de investigação com base na hipótese estabilizadora da forma activa constitutiva dos GPCRs para a geração de um sinal sem a necessidade de identificar a natureza de um ligando antes da descoberta de uma pequena molécula para esses mesmos receptores. Esta é a base da tecnologia CART (*constitutively activated receptor technology*) que aumenta a detecção e permite simultaneamente a identificação do inibidor e do activador do receptor. Foi recentemente descrito um agonista inverso – o GPR119 (www.arenapharma.com) que permite obter uma molécula que interage com o receptor bem como com a obtenção de outros agonistas tendo como esqueleto o mesmo modelo operacional. O GPR119 aumenta o AMPc das células plasmáticas produtoras de insulina. Outros trabalhos experimentais demonstraram a expressão do GPR119 não só no pâncreas mas também nas células intestinais endócrinas estimulando péptidos hormonais como o GLPI, GIP e Pyy, que regulam a homeostase da glicose e são regulados positivamente pelo GPR119. O GPR119 tem um efeito positivo na tolerância oral à glicose e uma actividade mantida quando administrado repetidamente para além de demonstrar uma eficácia crónica nos modelos animais de roedores com diabetes tipo 2 com redução da HBA1C e melhoria dos perfis lipídicos e da glicemia.

CONSIDERANDOS FINAIS

As diversas causas da diabetes tipo 2 encontram-se portanto em debate permanente. Geograficamente existem populações humanas mais afectadas que outras com a já descrita incidência em populações asiáticas indianas, chinesas, japonesas, aborígenes australianos, afro-americanos e hispano-americanos ⁽¹⁴⁾. De referir uma inesperada e surpreendente falta de incremento na população de origem europeia. Geneticamente a prevalência de gémeos monozigóticos diagnosticados com diabetes tipo 2 é 100%. Todavia só 20% de gémeos dizigóticos e irmãos não gémeos desenvolvem esta doença metabólica. Sabe-se que os factores ambientais e do estilo de vida desempenham uma papel muito importante induzindo um aumento da susceptibilidade genética associada a um estilo de vida decorrente de um aumento de in-

gestão calórica e do sedentarismo ⁽¹⁵⁾. A evolução terá desempenhado um papel sugerindo a existência de genes protectores em períodos de fome passando por uma utilização nutricional mais eficaz, estimulando-se os depósitos adiposos e o ganho ponderal.

Na diabetes tipo 2 as células tornam-se resistentes à insulina. De acordo com a actual revisão a respectiva fisiopatologia implica uma rede imbricada de vias de sinalização celulares que se iniciam quando a insulina se liga ao respectivo receptor incluindo outros fenómenos de sinalização que produzem uma resistência aos efeitos da insulina. A compreensão básica das proteínas e das suas vias metabólicas tem contribuído igualmente para os avanços biotecnológicos no estudo da diabetes tipo 2. De acordo com os alvos celulares acima referidos desenham-se novos fármacos com potenciais marcadores clínicos para a monitorização desta doença. O desenvolvimento destas novas terapias constitui um desafio dada a natureza progressiva da diabetes. A estratégia fundamental é a identificação de compostos que não só tenham um efeito inicial na redução da glicemia do sangue mas que venham a ter efeitos positivos a longo prazo nos tratamentos da diabetes. À medida que a investigação se desenvolve desenha-se um futuro promissor para as novas terapias que não só visam o tratamento dos sintomas da doença metabólica mas que levem a uma paragem na progressão desse mesmo estado patológico. De referir que a natureza multifactorial do ambiente e da base genética da diabetes poderão levar à identificação de marcadores génicos específicos que conduzam a terapias mais discriminativas especificamente designadas para subgrupos distintos de pacientes ou para os indivíduos em risco de desenvolver a doença.

BIBLIOGRAFIA

1. Pirola L, et al. Modulation of insulin action. *Diabetologia*. 2004; 47: 170-184.
2. Saltiel AR, Kahn R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001; 414: 799-806.
3. Moller DE, et al. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nature*. 2001; 414: 821-827.
4. Jiang G, Zhang BB. Pi 3-Kinase and its up and down-stream modulators as potential targets for the treatment of type II diabetes. *Front Biosci*. 2002; 7: 903-907.
5. Turttle KR, Anderson PV. A novel potential therapy for diabetic nephropathy and vascular complications: Protein kinase C beta inhibition. *Am J Kidney Dis*. 2003; 42: 456-465.
6. Stiles B, et al. Life-specific deletion of negative regulator Pten results in fatty liver and insulin hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 2004; 101: 2088-2087.
7. Coghlan MP, et al. Selective small molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 modulate glycogen metabolism and gene transcription. *Chem Biol*. 2000; 7: 793-803.
8. Klamon LD, et al. Increased energy expenditure, decrease adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient mice. *Mol Cell Biol*. 2000; 20: 5479-5489.
9. Hori H, et al. Association of SH2-containing inositol phosphatase 2 with the insulin resistance of diabetic db/db mice. *Diabetes*. 2002; 51: 2387-2394.
10. Grossman SL, Lessem J. Mechanisms and clinical effects of thiazolidinediones. *Expert Opin Investig Drugs*. 1997; 6: 1025-1040.
11. Way JM, et al. Comprehensive messenger ribonucleic acid profiling reveals that peroxisome-activated receptor gamma activation has coordinate effects on gene expression in multiple insulin-sensitive tissues. *Endocrinology*. 2001; 142: 1269-1277.
12. Toren F, et al. Recent advances in biology and physiology of sirtuins. *Nature*. 2009; 460: 587-590.
13. Bradanate S, et al. Cardiovascular protector effects of resveratrol. *Cardiovascular drug research*. 2004; 22: 169-188
14. Diamond J. The double puzzle of diabetes. *Nature*. 2003; 423: 599-602.
15. Santeusanio F, et al. Diabetes and exercise. *J. Endocrinol Invest*. 2003; 26: 937-940.