

SANDRA CAMPOS RODRIGUES

**AVALIAÇÃO FUNCIONAL E MOLECULAR DE ADAPTAÇÕES NO
METABOLISMO ENERGÉTICO HEPÁTICO AO FINAL DO PERÍODO DE
PRENHEZ EM RATAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Silvana A. Bordin da Silva

Versão Corrigida

São Paulo
2011

RESUMO

CAMPOS-RODRIGUES, S. **Avaliação funcional e molecular de adaptações no metabolismo energético hepático ao final do período de prenhez em ratas.** 2011. 54 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

A participação do fígado na homeostasia da glicose materna ainda não está esclarecida. Este estudo avaliou a produção hepática de glicose em ratas prenhes e controle bem como algumas das principais vias metabólicas hepáticas envolvidas nas alterações metabólicas mediadas pelo fígado ao final do período de prenhez em ratas. Houve diminuição do conteúdo de glicogênio hepático e glicose circulante em ratas prenhes. A taxa de gliconeogênese diminuiu em prenhes assim como o conteúdo de IR e sua fosforilação em tirosina mediante estímulo com insulina, porém a fosforilação em serina da AKT e o conteúdo e expressão gênica da PEPCK, mantêm-se como em controles. Há aumento do conteúdo de PTP1B e de sua associação ao IR na presença de insulina. Houve diminuição do conteúdo de G6Pase, AMPK total e da fosforilação da AMPK α /1 e, conseqüentemente, da fosforilação da ACC em ratas prenhes. Há aumento de triglicérides circulantes e diminuição de triglicérides no tecido hepático. Aumenta a expressão gênica da FAS e diminuem as expressões de G-6-Pase, MEs, LXR, SREBP1 e PFK. Os resultados indicam não haver resistência à insulina no fígado de ratas prenhes e que a atividade metabólica hepática no período está voltada para a síntese *de novo* de ácidos graxos.

Palavras-chave: Sinalização intracelular. Prenhez. Gliconeogênese. Fígado.

ABSTRACT

CAMPOS-RODRIGUES, S. **Functional and molecular evaluation of energy metabolism adaptations in liver from pregnant rats.** 2011. 54 p. Masters thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

The involvement of the liver in maternal glucose homeostasis is still unclear. This study evaluated the hepatic glucose production in pregnant rats and some of the hepatic metabolic pathways involved in metabolic disorders mediated by the liver in late pregnancy. There was a decrease in liver glycogen content and plasma glucose in pregnant rats. The rate of gluconeogenesis decreased as well as the contents of IR tyrosine phosphorylation after insulin stimulus, but the pSer-AKT, PEPCK, SHP2 contents, SHP2-IR association and the expression of PEPCK remained unaltered. The content of PTP1B and its association with IR decreases in the presence of insulin. The content of G6Pase, AMPK and the phosphorylation of AMPK $\alpha/1$ and consequently the phosphorylation of ACC decreases in liver from pregnant animals. Triglyceride levels and the expression of FAS was increased in pregnant rats whereas the triglycerides reduced in the liver. The expression of G-6-Pase, MEs, LXR, SREBP1 and PFK decreased in the liver of pregnant rats. The results indicate no insulin resistance in the liver of pregnant rats, and that hepatic metabolic activity in this period is focused on *de novo* fatty acids synthesis.

Key words: Intracellular signaling. Pregnancy. Gluconeogenesis. Liver.

INTRODUÇÃO

CONSIDERAÇÕES GERAIS

O fluxo de substratos energéticos entre os tecidos provedores (fígado, musculatura esquelética, tecido adiposo) e o sangue são finamente regulados de modo a prover o organismo de energia para seu funcionamento adequado.

Inúmeras patologias estão relacionadas ao metabolismo energético, talvez a mais conhecida seja o diabetes mellitus. O tipo I do diabetes ocorre quando há perda da funcionalidade da parte endócrina das ilhotas pancreáticas e conseqüentemente supressão da produção hormonal de insulina e perda dessas ações hormonais em todo o organismo. O diabetes tipo II apresenta um quadro de síndrome metabólica caracterizado por resistência à ação da insulina em tecidos periféricos com persistência de quadro de hiperglicemia que pode desencadear perda da função endócrina pancreática e evolução do quadro semelhante ao diabetes tipo I.

O diabetes é um problema global de saúde pública, estima-se que nos Estados Unidos 11,2% dos homens e 10,2% das mulheres acima de 20 anos de idade tem diabetes (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010).

PRENHEZ

A prenhez é um período em que a fêmea é transitoriamente submetida a alterações metabólicas que resultam em um quadro semelhante à síndrome metabólica, mas que geralmente são cuidadosamente reguladas para fornecer um suprimento ideal de substratos da mãe para o feto. No final da gestação, observa-se a ocorrência de um quadro de resistência periférica à ação da insulina, porém este tende a regressão após o parto e início da lactação.

De modo geral, no início do período, a fêmea prenhe apresenta incremento no anabolismo, estando os tecidos mais sensíveis à captação de aminoácidos e glicose (NAISMITH; MORGAN, 1976; HERRERA, 2000) o que

também ocorre pontualmente durante algumas fases da lactação, porém de maneira dependente de fatores ambientais e número de crias (DENIS; WILLIAMS; VERNON, 2003). Grande parte desta ação se deve a uma maior sensibilidade à insulina nesse período, havendo alta captação de glicose principalmente no tecido adiposo e muscular (HERRERA, 2000). Já no fim da prenhez o que se nota é uma menor sensibilidade à insulina, de modo a aumentar a disponibilidade de seu principal substrato, a glicose, para o feto (SMITH; GROVE, 2002).

Todas essas alterações no metabolismo energético materno e as diferenças observadas no início e final da prenhez são reguladas por inúmeros hormônios, notadamente os hipofisários, ovarianos e do córtex adrenal, reajustados por ocorrência da concepção e que vão garantir a continuidade da formação de um novo ser. As alterações hormonais que ocorrem na prenhez induzem modificações na transmissão dos diferentes sinais hormonais e da amplitude do efeito celular aos hormônios nos tecido-alvo.

Por exemplo, os esteróides sexuais, que durante a prenhez são mantidos em níveis altos, se relacionam com a regulação do metabolismo energético, agindo diretamente sobre o pâncreas endócrino. A administração de estrógenos induz aumento do conteúdo de insulina em pâncreas de ratos que pode contribuir para a hiperinsulinemia observada durante a prenhez em mamíferos. Há também regeneração e hipertrofia de ilhotas pancreáticas em modelo animal de pancreatectomia parcial tratado com estrógenos (HOUSSAY; FOGLIA; RODRIGUEZ, 1954).

Em ratas, observa-se também no final da prenhez uma alta taxa de utilização de glicose pelo concepto, que representa cerca de 30% da taxa de utilização total de glicose pelo organismo materno (LETURQUE et al., 1986). Este fluxo representativo de glicose direcionado ao concepto é garantido pela resistência à ação da insulina no tecido adiposo (FERRE et al., 1986) e na musculatura composta predominantemente por fibras glicolíticas (LETURQUE et al., 1986). Quando levados em consideração todos os tecidos responsivos à insulina, a captação de glicose materna diminui de 40 a 60% durante uma

gravidez/prenhez normal, tanto em humanos como em roedores (HORNNES, 1985; ROSSI et al., 1993).

METABOLISMO ENERGÉTICO HEPÁTICO NA PRENHEZ

Sabe-se que a utilização das reservas energéticas hepáticas é variável de acordo com a situação nutricional. No jejum, o fígado é o principal produtor de glicose, quebrando o glicogênio hepático e sintetizando glicose a partir de lactato, aminoácidos, glicerol e piruvato; a lipogênese é diminuída e a oxidação de ácidos graxos e a cetogênese são ativadas visando suprir os tecidos extra-hepáticos de energia e combustíveis metabólicos. Em função dessa ação do fígado sobre os substratos energéticos disponíveis para o organismo, alterações em seu funcionamento podem claramente afetar o metabolismo e a homeostasia energética geral, sendo, portanto, base do desenvolvimento de doenças metabólicas como diabetes tipo II e a síndrome metabólica (VIOLETTE et al., 2009).

Os dados da literatura referentes à participação do fígado na resistência à insulina durante a prenhez ainda são conflitantes. Há relatos de aumento (GONZALEZ et al., 2003) e de redução da fosforilação do IRS1 induzida por insulina no animal prenhe (SAAD et al., 1997) além de aumento da atividade de fosfatases associadas a membranas (HAUGUEL-DE MOUZON, 1993), porém sem alteração de alvos importantes da insulina, da quantidade de glicogênio hepático (HERRERA; KNOOP; FREINKEL, 1969; KILGOUR; VERNON, 1987) e da capacidade de suprimir a produção hepática de glicose (NOLAN; PROIETTO, 1996).

A ligação da insulina à subunidade extracelular do seu receptor de membrana (IR) estimula sua atividade enzimática, promovendo sua auto-fosforilação em vários resíduos de tirosina. Essa auto-fosforilação ativa o receptor, o que leva a fosforilação de substratos intracelulares, denominados substratos do receptor de insulina (IRSs). (SAAD, 1994). A fosforilação em resíduos de serina e treonina inativa esse receptor e atualmente é considerada potente modulador dos efeitos da insulina (ZIERATH; WALLBERG-HENRIKSSON, 2002).

Após a fosforilação em diversos resíduos de tirosina, os IRSs atuam como proteínas acopladoras da subunidade regulatória da enzima fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). A ligação da subunidade p85 da PI3K ao substrato do receptor de insulina 1 (IRS1) estimula a atividade quinase da subunidade catalítica p110 e a ativação dessa proteína promove vários efeitos biológicos da insulina, dentre eles a captação de glicose, translocação de transportador de glicose 4 (GLUT4) para a membrana plasmática, síntese de glicogênio e de ácido desoxirribonucléico (DNA) e ativação da lipólise (DE FRONZO; MIKI; STEINKE, 1967; TANIGUCHI; EMANUELLI; KAHN, 2006).

Estudos recentes têm demonstrado que vias de sinalização que são independentes do sinal intracelular desencadeado pelo receptor de insulina desempenham um papel crucial na regulação de eventos metabólicos tais como a captação de glicose dependente da translocação de vesículas de GLUT4 e a produção hepática de glicose proveniente da gliconeogênese. Uma destas vias alternativas à sinalização da insulina envolve a ativação de uma proteína quinase dependente de AMP, a AMPK.

PROTEÍNA QUINASE ATIVADA POR MONOFOSFATO DE ADENOSINA

A AMPK é um complexo heterotrimérico que apresenta três subunidades, uma catalítica ($\alpha/1$) e outras duas não catalíticas ($\beta/2$ e γ) (HARDIE; CARLING, 1997). Cada subunidade apresenta duas ou mais isoformas: $\alpha 2$, $\beta 1$, $\gamma 1$ ou $\gamma 3$ (MAHLAPUU et al., 2004). A sub-unidade β ou 2 atua como uma estrutura que mantém as sub-unidades α ou 1 e γ ligadas a ela, a subunidade γ tem sido proposta como ligante de 5'AMP. Mutações na subunidade γ podem acarretar problemas no metabolismo de glicogênio (CHEUNG et al., 2000; ARAD et al., 2002).

A AMPK atua como um sensor do *status* energético celular na maioria dos tecidos e órgãos, pois integra os sinais nutricionais e hormonais. De modo geral age estimulando a captação de glicose e a oxidação de lipídios, enquanto suprime processos consumidores de energia, controlando assim a homeostase glicêmica pela regulação do metabolismo em vários tecidos periféricos chave

da patologia do diabetes tipo II, como fígado, músculo esquelético, tecido adiposo e células β pancreáticas (LONG; ZIERATH, 2006).

A ativação da AMPK é primariamente regulada pelo AMP; quando a razão AMP/ATP intracelular aumenta, a ativação direta da AMPK pelo AMP se dá de maneira conjunta com sua fosforilação em treonina 172 (CORTON; GILLESPIE; HARDIE, 1994). A ligação ao AMP expõe a subunidade α da AMPK, de modo que essa acaba por ser fosforilada por uma de duas enzimas distintas, a CaMKK (quinase da quinase dependente de calmodulina) e a LKB1 (serina-treonina proteína quinase). Durante o processo de contração muscular, a ativação da AMPK envolve a fosforilação de uma quinase anterior, a AMPKK (HAWLEY et al., 1996) e a hidrólise de ATP em ADP + Pi para produzir energia (CORTON; GILLESPIE; HARDIE, 1994).

METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

Vários estudos já demonstraram que a AMPK e CaMKK estão envolvidas na captação de glicose pela atividade contrátil. As CaMKs são proteínas que fosforilam substratos importantes para a transcrição gênica e também atuam na secreção de vesículas, na regulação de canais iônicos e na morfogênese celular (TOMBES; FAISON; TURBEVILLE, 2003). A descrição desses mecanismos permitiu que se compreendessem como essas vias são alvo de drogas hipoglicemiantes tais como metformina e tiazolidinediona (KROOK; WALLBERG-HENRIKSSON; ZIERATH, 2004) usadas no tratamento do diabetes tipo II.

A AMPK fosforila diretamente e regula a ação de enzimas (o que pode ativá-las ou desativá-las) envolvidas na síntese de carboidratos, lipídios e proteínas. Por ação indireta, de longo prazo, regula fatores transcricionais atuantes nessas vias metabólicas (LONG; ZIERATH, 2006).

No tecido muscular e adiposo, AMPK aumenta a captação de glicose, pois esta enzima estimula a translocação de vesículas ricas em GLUT4 de modo dependente da fosforilação do substrato AS-160 da proteína quinase B (AKT) (BRUSS et al., 2005). Além disto, a AMPK diminui a secreção de insulina

pelas células β pancreáticas e reduz a ingestão alimentar quando ativada em centros específicos do hipotálamo (LONG; ZIERATH, 2006). A ativação da AMPK no fígado resulta na inibição da produção de glicose em decorrência da diminuição da expressão das enzimas fosfoenol piruvato carboxiquinase (PEPCK) e glicose-6-fosfatase (G6Pase) que controlam principalmente a gliconeogênese (POSTIC; DENTIN; GIRARD, 2004), enquanto que, por sua vez, a glicogenólise e a glicólise dependem da ativação da enzima fosfofrutoquinase (PFK) que regula esses processos.

METABOLISMO LIPÍDICO

Além da modulação do metabolismo de carboidratos, a AMPK estimula a oxidação de ácidos graxos e inibe a síntese de triacilgliceróis no tecido hepático. O efeito da AMPK sobre o metabolismo de lipídeos é decorrente principalmente da capacidade desta enzima fosforilar e inibir a Acetil-CoA Carboxilase (ACC). (HARDIE; CARLING, 1997).

A ACC é uma das proteínas-alvo bem caracterizadas da AMPK ativa. (RUDERMAN; PRENTKI, 2004). Sua inativação, mediada pela fosforilação pela p-AMPK, leva à síntese de colesterol e inibição da síntese de triacilgliceróis (HARDIE; CARLING, 1997; RUDERMAN; PRENTKI, 2004), podendo, portanto, modular o metabolismo de ácidos graxos via fígado. Sabe-se também que a ativação da AMPK leva a um aumento na oxidação de ácidos graxos, dependente da inibição da ACC pela AMPK (RUDERMAN et al., 2003; SMITH; BRUCE; DYCK, 2005).

A síntese *de novo* de ácidos graxos, processo em que carbonos provenientes de carboidratos são transformados em lipídeos no fígado (PARKS, 2002), é um mecanismo em que a ACC participa de forma crucial. Embora a lipogênese *de novo* seja altamente ativa em roedores, sua contribuição para o fluxo de ácidos graxos em humanos ainda não foi bem definida, devido à falta de métodos capazes de mensurar a síntese *in vivo* de lipídios em humanos (PARKS, 2002).

Vários fatores, inclusive nutricionais, regulam a expressão das enzimas que participam da lipogênese. ACC catalisa a carboxilação da acetil-CoA, reação mais importante na regulação da síntese *de novo* de ácidos graxos e a sintase de ácidos graxos (FAS), enzima anabólica responsável pela produção de ácidos graxos, que converte a malonil CoA em palmitato. Há indícios de que dietas hipolipídicas e hiperglicídicas estimulam consideravelmente a lipogênese (UYEDA; YAMASHITA; KAWAGUCHI, 2002), aumentando a expressão de enzimas lipogênicas (DELZENNE et al., 2001).

O receptor LXR (*Liver X receptors*) regulam uma série de genes alvo envolvidos no metabolismo hepático de colesterol e ácidos graxos (ULVEN et al., 2005). São conhecidos como fatores de transcrição que desempenham funções de regulação central na absorção de lipídeos, no metabolismo e no efluxo de colesterol. LXR é ativado por colesterol oxidado, de modo que alterações no consumo de lipídeos, bem como em seu processamento, podem influenciar a atividade transcricional dos genes regulados pelos receptores LXR (SZANTO; ROSZER, 2008). Dentre esses, os fatores de transcrição SREBP (*sterol regulatory binding proteins*) aumentam preferencialmente a transcrição de genes envolvidos na síntese de ácidos graxos, por exemplo, o da ACC (STOECKMAN; TOWLE, 2002).

O MODELO DO ESTUDO

Pelo fato de ser o fígado um dos principais tecido-alvo dos hormônios reguladores do fluxo de energia, como a insulina e o glucagon, diferentes vias bioquímicas intracelulares são continuamente ativadas nesse órgão, o que garante a regulação de processos centrais do metabolismo energético, como a glicólise, gliconeogênese e glicogenólise. Tais eventos metabólicos ocorrem também no fígado ou são regulados por este órgão em diferentes estágios de nutrição e balanço energético e estão diretamente ligados a distúrbios e patologias como obesidade e diabetes. Assim, a redefinição do fluxo energético da prenhez se relaciona a importante participação de alterações da maquinaria protéica hepática.

Neste estudo, enfocamos as alterações metabólicas e suas vias no final da prenhez em ratas Wistar, em especial o envolvimento na via da AMPK na produção hepática de glicose. Diferente do tecido adiposo e músculo esquelético, a participação do fígado nas alterações do fluxo energético materno ainda não está completamente esclarecida.

CONCLUSÕES

Sob o ponto de vista metabólico, parece não ocorrer resistência à insulina no fígado de ratas prenhes, posto que a fosforilação da AKT e a expressão da PEPCK não foram alteradas e a inibição da expressão das MEs foi mantida.

A redução da produção hepática de glicose frente ao estímulo com piruvato, associada a (a) resposta normal à insulina; (b) expressão de enzimas lipogênicas; e (c) atividade da via AMPK/ACC indicam que a atividade metabólica do fígado de ratas prenhes é preferencialmente dirigida à síntese *de novo* de lipídeos e não à gliconeogênese como previamente proposto.

REFERÊNCIAS*

- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Type 2. Disponível em: <www.diabetes.org/diabetes-sics/diabetesstatistics/>. Acesso em: 15 nov. 2010.
- ARAD, M.; BENSON, D. W.; PEREZ-ATAYDE, A. R.; MCKENNA, W. J.; SPARKS, E. A.; KANTER, R. J.; MCGARRY, K.; SEIDMAN, J. G.; SEIDMAN, C. E. Constitutively active AMP kinase mutations cause glycogen storage disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy. **J. Clin. Invest.**, v. 109, n. 3, p. 357-362, 2002.
- BRUSS, M. D.; ARIAS, E. B.; LIENHARD, G. E.; CARTEE, G. D. Increased phosphorylation of Akt substrate of 160 kDa (AS160) in rat skeletal muscle in response to insulin or contractile activity. **Diabetes**, v. 54, n. 1, p. 41-50, 2005.
- CHEUNG, P. C.; SALT, I. P.; DAVIES, S. P.; HARDIE, D. G.; CARLING, D. Characterization of AMP-activated protein kinase gamma-subunit isoforms and their role in AMP binding. **Biochem. J.**, v. 346, pt. 3, p. 659-669, 2000.
- CORTON, J. M.; GILLESPIE, J. G.; HARDIE, D. G. Role of the AMP-activated protein kinase in the cellular stress response. **Curr. Biol.**, v. 4, n. 4, p. 315-324, 1994.
- DE FRONZO, R.; MIKI, E.; STEINKE, J. [Diabetic syndrome in sand rats. 3. Observations on adipose tissue and liver in the non-diabetic stage]. **Diabetologia**, v. 3, n. 2, p. 140-142, 1967.
- DELZENNE, N.; FERRE, P.; BEYLOT, M.; DAUBIOUL, C.; DECLERCQ, B.; DIRAISON, F.; DUGAIL, I.; FOUFELLE, F.; FORETZ, M.; MACE, K.; REIMER, R.; PALMER, G.; RUTTER, G.; TAVARE, J.; VAN LOO, J.; VIDAL, H. Study of the regulation by nutrients of the expression of genes involved in lipogenesis and obesity in humans and animals. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, v. 11, p. 118-121, n. 4, 2001. Suppl.
- DENIS, R. G.; WILLIAMS, G.; VERNON, R. G. Regulation of serum leptin and its role in the hyperphagia of lactation in the rat. **J. Endocrinol.**, v. 176, n. 2, p. 193-203, 2003.

*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

FERRE, P.; BURNOL, A. F.; LETURQUE, A.; TERRETAZ, J.; PENICAUD, L.; JEANRENAUD, B.; GIRARD, J. Glucose utilization in vivo and insulin-sensitivity of rat brown adipose tissue in various physiological and pathological conditions. **Biochem. J.**, v. 233, n. 1, p. 249-252, 1986.

GONZALEZ, C.; ALONSO, A.; FERNANDEZ, R.; PATTERSON, A. M. Regulation of insulin receptor substrate-1 in the liver, skeletal muscle and adipose tissue of rats throughout pregnancy. **Gynecol. Endocrinol.**, v. 17, n. 3, p. 187-197, 2003.
HARDIE, D. G.; CARLING, D. The AMP-activated protein kinase--fuel gauge of the mammalian cell? **Eur. J. Biochem.**, v. 246, n. 2, p. 259-273, 1997.

HAUGUEL-DE MOUZON, S. E. A. Alteration of phosphotyrosine phosphatase activity in tissues from diabetic and pregnant rats. **Endocrinology**, v. 132, p. 67-74, 1993.

HAWLEY, S. A.; DAVISON, M.; WOODS, A.; DAVIES, S. P.; BERI, R. K.; CARLING, D.; HARDIE, D. G. Characterization of the AMP-activated protein kinase kinase from rat liver and identification of threonine 172 as the major site at which it phosphorylates AMP-activated protein kinase. **J. Biol. Chem.**, v. 271, n. 44, p. 27879-27887, 1996.

HERRERA, E. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 54, p. S47-S51, 2000. Suppl 1.

HERRERA, E.; KNOPP, R. H.; FREINKEL, N. Carbohydrate metabolism in pregnancy. VI. Plasma fuels, insulin, liver composition, gluconeogenesis, and nitrogen metabolism during late gestation in the fed and fasted rat. **J. Clin. Invest.**, v. 48, n. 12, p. 2260-2272, 1969.

HORNES, P. J. On the decrease of glucose tolerance in pregnancy: studies of gastro-entero-pancreatic hormones and cortisol. **Dan. Med. Bull.**, v. 32, n. 2, p. 79-86, 1985.

HOUSSAY, B. A.; FOGLIA, V. G.; RODRIGUEZ, R. R. Production or prevention of some types of experimental diabetes by oestrogens or corticosteroids. **Acta Endocrinol. (Copenh)**, v. 17, n. 1-4, p. 146-164, 1954.

KILGOUR, E.; VERNON, R. G. Tissue-specific changes in the ability of insulin and noradrenaline to activate pyruvate dehydrogenase in vivo during lactation in the rat. **Biochem. J.**, v. 243, n. 1, p. 69-74, 1987.

KROOK, A.; WALLBERG-HENRIKSSON, H.; ZIERATH, J. R. Sending the signal: molecular mechanisms regulating glucose uptake. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 36, n. 7, p. 1212-1217, 2004.

LETURQUE, A.; FERRE, P.; BURNOL, A. F.; KANDE, J.; MAULARD, P.; GIRARD, J. Glucose utilization rates and insulin sensitivity in vivo in tissues of virgin and pregnant rats. **Diabetes**, v. 35, n. 2, p. 172-177, 1986.

LONG, Y. C.; ZIERATH, J. R. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. **J. Clin. Invest.**, v. 116, n. 7, p. 1776-1783, 2006.

MAHLAPUU, M.; JOHANSSON, C.; LINDGREN, K.; HJALM, G.; BARNES, B. R.; KROOK, A.; ZIERATH, J. R.; ANDERSSON, L.; MARKLUND, S. Expression profiling of the gamma-subunit isoforms of AMP-activated protein kinase suggests a major role for gamma3 in white skeletal muscle. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 286, n. 2, p. E194-E200, 2004.

NAISMITH, D. J.; MORGAN, B. L. The biphasic nature of protein metabolism during pregnancy in the rat. **Br. J. Nutr.** v. 36, n. 3, p. 563-566, 1976.

NOLAN, C. J.; PROIETTO, J. The set point for maternal glucose homeostasis is lowered during late pregnancy in the rat: the role of the islet beta-cell and liver. **Diabetologia**, v. 39, n. 7, p. 785-792, 1996.

POSTIC, C.; DENTIN, R.; GIRARD, J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. **Diabetes Metab.**, v. 30, n. 5, p. 398-408, 2004.

ROSSI, G.; SHERWIN, R. S.; PENZIAS, A. S.; LAPACZEWSKI, P.; JACOB, R. J.; SHULMAN, G. I.; DIAMOND, M. P. Temporal changes in insulin resistance and secretion in 24-h-fasted conscious pregnant rats. **Am. J. Physiol.**, v. 265, n. 6, pt. 1, p. E845-E851, 1993.

RUDERMAN, N.; PRENTKI, M. AMP kinase and malonyl-CoA: targets for therapy of the metabolic syndrome. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 3, n. 4, p. 340-351, 2004.

RUDERMAN, N. B.; CACICEDO, J. M.; ITANI, S.; YAGIHASHI, N.; SAHA, A. K.; YE, J. M.; CHEN, K.; ZOU, M.; CARLING, D.; BODEN, G.; COHEN, R. A.; KEANEY, J.; KRAEGEN, E. W.; IDO, Y. Malonyl-CoA and AMP-activated protein kinase (AMPK): possible links between insulin resistance in muscle and early endothelial cell damage in diabetes. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 31, pt. 1, p. 202-206, 2003.

SAAD, M. J. Molecular mechanisms of insulin resistance. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 27, n. 4, p. 941-957, 1994.

SAAD, M. J.; MAEDA, L.; BRENELLI, S. L.; CARVALHO, C. R.; PAIVA, R. S.; VELLOSO, L. A. Defects in insulin signal transduction in liver and muscle of pregnant rats. **Diabetologia**, v. 40, n. 2, p. 179-186, 1997.

SMITH, A. C.; BRUCE, C. R.; DYCK, D. J. AMP kinase activation with AICAR simultaneously increases fatty acid and glucose oxidation in resting rat soleus muscle. **J. Physiol.**, v. 565, pt. 2, p. 537-546, 2005.

SMITH, M. S.; GROVE, K. L. Integration of the regulation of reproductive function and energy balance: lactation as a model. **Front Neuroendocrinol.**, v. 23, n. 3, p. 225-256, 2002.

STOECKMAN, A. K.; TOWLE, H. C. The role of SREBP-1c in nutritional regulation of lipogenic enzyme gene expression. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n. 30, p. 27029-27035, 2002.

SZANTO, A.; ROSZER, T. Nuclear receptors in macrophages: a link between metabolism and inflammation. **FEBS Lett.**, v. 582, n. 1, p. 106-116, 2008.

TANIGUCHI, C. M.; EMANUELLI, B.; KAHN, C. R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, v. 7, n. 2, p. 85-96, 2006.

TOMBES, R. M.; FAISON, M. O.; TURBEVILLE, J. M. Organization and evolution of multifunctional Ca(2+)/CaM-dependent protein kinase genes. **Gene**, v. 322, p. 17-31, 2003.

ULVEN, S. M.; DALEN, K. T.; GUSTAFSSON, J. A.; NEBB, H. I. LXR is crucial in lipid metabolism. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.**, v. 73, n. 1, p. 59-63, 2005.

UYEDA, K.; YAMASHITA, H.; KAWAGUCHI, T. Carbohydrate responsive element-binding protein (ChREBP): a key regulator of glucose metabolism and fat storage. **Biochem. Pharmacol.**, v. 63, n. 12, p. 2075-2080, 2002.

VIOLLET, B.; GUIGAS, B.; LECLERC, J.; HEBRARD, S.; LANTIER, L.; MOUNIER, R.; ANDREELLI, F.; FORETZ, M. AMP-activated protein kinase in the regulation of hepatic energy metabolism: from physiology to therapeutic perspectives. **Acta Physiol. (Oxf.)**, v. 196, n. 1, p. 81-98, 2009.

ZIERATH, J. R.; WALLBERG-HENRIKSSON, H. From receptor to effector: insulin signal transduction in skeletal muscle from type II diabetic patients. **Ann. N. Y. Acad Sci.**, v. 967, p. 120-134, 2002.