

**ANA CLÁUDIA POLETTO**

**ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS OLÉICO E  
LINOLÉICO REPRIMEM O GENE *S/c2a4* VIA NF-κB E  
SREBP-1**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana.

Orientador: Prof. Dr. Ubiratan Fabres Machado.

Versão original

**São Paulo  
2011**

## RESUMO

POLETTO, A. C. **Ácidos graxos insaturados oléico e linoléico reprimem o gene *Slc2a4* via NF- $\kappa$ B e SREBP-1.** 2011. 89 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Os ácidos graxos (AGs) são nutrientes essenciais para o adequado funcionamento do organismo. Entretanto, o aumento dos níveis circulantes de alguns AGs e o acúmulo ectópico de gordura estão relacionados com o desenvolvimento da resistência à insulina na obesidade e no *diabetes mellitus*. Os mecanismos envolvidos nesta regulação não estão totalmente elucidados, todavia, a participação dos AGs no controle transcricional do gene *Slc2a4* deve ser considerada. De acordo com estes aspectos, o objetivo do presente trabalho foi avaliar em células musculares pertencentes à linhagem L6, o efeito de AGs muito consumidos na dieta ocidental, os AGs, oléico (OFA) e linoléico (LFA), na regulação de fatores transcricionais envolvidos no controle da expressão do GLUT4, tais como: NF- $\kappa$ B, SREBP-1c, HIF-1 $\alpha$ , LXR $\alpha$  e PPAR $\gamma$ . Na presença de OFA e de LFA, foi verificada uma redução significativa do conteúdo da proteína GLUT4 (OFA, 50 a 400  $\mu$ M, 29-43%; LFA, 300  $\mu$ M, 33% e 400  $\mu$ M, 54%, *versus* controle). Após esta etapa, para o prosseguimento das análises, foram selecionadas três concentrações para experimentos com OFA (25, 50 e 200  $\mu$ M) e com LFA (50, 200 e 300  $\mu$ M). Em todas as concentrações analisadas de OFA e LFA, foram detectadas redução da expressão do mRNA de GLUT4 (OFA, 25 a 200  $\mu$ M, 36-60%; LFA, 50 a 300  $\mu$ M, 34-52% *versus* controle), bem como redução da expressão do mRNA de SREBP-1c (OFA, 25 a 200  $\mu$ M, 38-74%; LFA, 50 a 300  $\mu$ M, 59-80%, *versus* controle). Adicionalmente, o tratamento com esses AGs resultou em aumento da expressão do mRNA de NF- $\kappa$ B (OFA, 200  $\mu$ M, 49%; LFA, 200  $\mu$ M, 67%, e 300  $\mu$ M, 136% *versus* controle), HIF-1 $\alpha$  (OFA, 200  $\mu$ M, 125%; LFA, 200  $\mu$ M, 43%; LFA, 300  $\mu$ M, 56% *versus* controle), LXR $\alpha$  (OFA, 50  $\mu$ M, 66% e 200  $\mu$ M, 50%; LFA, 300  $\mu$ M, 103% *versus* controle) e PPAR $\gamma$  (LFA, 300  $\mu$ M, 128% *versus* controle). Em relação à atividade de ligação ao gene *Slc2a4* foram identificadas duas bandas para NF- $\kappa$ B, denominadas Complexo I e II; foi verificado aumento na atividade de ligação de NF- $\kappa$ B (OFA, 200  $\mu$ M, 25% no Complexo I e para 25 a 200  $\mu$ M, 12-21% no Complexo II; LFA, 200 e 300  $\mu$ M, 12 e 24% respectivamente, para Complexo I e 200 e 300  $\mu$ M, 42 e 35% respectivamente, para Complexo II *versus* controle) e diminuição na atividade de ligação de PPAR $\gamma$  (LFA, 50-300  $\mu$ M, 58-73% *versus* controle) e de SREBP-1 (OFA, 25  $\mu$ M, 42% e 200  $\mu$ M, 67%; LFA, 50 a 300  $\mu$ M, 49-68%). Não houve alteração quanto à ligação de LXR $\alpha$  e HIF-1 $\alpha$  ao gene *Slc2a4*. Por fim, tanto OFA, como LFA aumentaram a fosforilação de IKK $\alpha$ / $\beta$  (OFA, 200  $\mu$ M, 346%; LFA, 50 a 300  $\mu$ M, 95-178% *versus* controle). Em conclusão, ambos AGs OFA e LFA diminuem a expressão do GLUT4, com importante participação dos fatores

transcricionais NF- $\kappa$ B e SREBP-1, e, portanto, a atuação de nutrientes na regulação da expressão de genes traz uma nova vertente quanto à modulação dietética para prevenção e/ou tratamento de doenças relacionadas com o quadro de resistência a insulina.

Palavras - chave: Ácido graxo oléico. Ácido graxo linoléico. *Slc2a4*. GLUT4. NF- $\kappa$ B. SREBP-1.

## ABSTRACT

POLETTO, A. C. **Oleic and Linoleic unsaturated fatty acids repressing *Slc2a4* gene via NF- $\kappa$ B and SREBP-1.** 2011. 89 p. Ph. D. thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Fatty acids (FAs) are essential for the growth and development of all organisms. However, high elevated levels of some but not all free fatty acids and ectopic lipid deposits are related with insulin resistance in obesity and *diabetes mellitus*. The real mechanisms by which FAs impair the action of insulin need to be clarified. Nevertheless the effects of these molecules in the transcriptional activity of the *Slc2a4* gene should be considered. According to these aspects, the aim of this work was to investigate the effects of the main unsaturated fatty acids such as oleic (OFA) and linoleic (LFA) in the activity and expression of NF- $\kappa$ B, SREBP-1c, HIF-1 $\alpha$ , LXR $\alpha$  and PPAR $\gamma$ . The results have showed a decrease in the GLUT4 protein content in the presence of 50 to 400  $\mu$ M, 29-43%, of the OFA and 300  $\mu$ M, 33%, and 400  $\mu$ M, 54%, of the LFA when compared with control. Besides, a reduction in the GLUT4 mRNA expression was detected in 25, 50 and 200  $\mu$ M of the OFA, 36-60% and 50, 200 and 300  $\mu$ M of the LFA, 34-52% vs. control. The transcriptional factors mRNA content was analyzed. A reduction in the SREBP-1c mRNA content (OFA, 25 to 200  $\mu$ M, 38-74%; LFA, 50 to 300  $\mu$ M, 59-80%) was detected. On the other hand, an increase in the NF- $\kappa$ B (OFA, 200  $\mu$ M, 49%; LFA, 200  $\mu$ M, 67% and 300  $\mu$ M, 136% vs. control), HIF-1 $\alpha$  (OFA, 200  $\mu$ M, 125%; LFA, 200  $\mu$ M, 43% and 300  $\mu$ M, 56%), LXR $\alpha$  (OFA, 50  $\mu$ M, 66%; LFA, 200  $\mu$ M, 50% and 300  $\mu$ M, 103% vs. control) and PPAR $\gamma$  (LFA, 300  $\mu$ M, 128%) mRNA content was showed. In addition, the binding activity of some transcriptional factors to the *Slc2a4* gene was investigated. Two specific bands to NF- $\kappa$ B were detected, Complex I and II. The treatment with OFA and LFA showed an increase in the NF- $\kappa$ B binding activity (OFA, 200  $\mu$ M, 25% in Complex I and for 25 to 200  $\mu$ M, 12-21% in Complex II; LFA, 200  $\mu$ M, 12% and 300  $\mu$ M, 24% in Complex I and 200  $\mu$ M, 42%, and 300  $\mu$ M, 35% in Complex II vs. control), and decrease in PPAR $\gamma$  binding activity (LFA, 50-300  $\mu$ M, 58-73% vs. control), and SREBP-1 binding activity (OFA, 25  $\mu$ M, 42% e 200  $\mu$ M, 67%; LFA, 50 to 300  $\mu$ M, 49-68% when compared to control). LXR $\alpha$  and HIF-1 $\alpha$  binding activity did not altered. Finally, both fatty acids increased the IKK $\alpha$ / $\beta$  phosphorylation (OFA, 200  $\mu$ M, 346%; LFA, 50 to 300  $\mu$ M, 95-178% vs. control). The present results show that unsaturated fatty acids OFA and LFA decrease the GLUT4 expression through the control of the NF- $\kappa$ B and SREBP-1 binding activity. For this, the modulation of gene expression by some nutrients like fatty acids can help us to do an individual dietetic modulation to the treatment of some diseases related with insulin resistance in obesity and diabetes.

Keywords: Oleic fatty acid. Linoleic fatty acid. *Slc2a4*. GLUT4. NF- $\kappa$ B. SREBP-1.

## INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos são nutrientes essenciais para o crescimento e o desenvolvimento do organismo. Além de importante substrato energético para o trabalho celular, estas biomoléculas atuam na composição estrutural da membrana plasmática, na acilação de proteínas e no fornecimento de sinalizadores intracelulares, como eicosanóides, diacilglicerol, ceramidas e ácido fosfatídico que regulam a atividade de proteínas, como as pertencentes à via de sinalização da insulina (SAVAGE et al., 2007; SESTI, 2006), e à expressão de genes envolvidos no controle do metabolismo, crescimento e diferenciação celular (JUMP, 2004; PÉRGORIER; LE; GIRARD, 2004).

Além de abundantemente encontrados em alimentos de origem animal e vegetal, principalmente como triacilglicerol (TAG), alguns ácidos graxos podem também ser sintetizados endogenamente a partir da glicose, como o ácido graxo saturado palmítico (C16:0) (JUMP, 2004), ou a partir de ácidos graxos poliinsaturados essenciais, como os ácidos graxos araquidônico (C20:4), *n*6 e docosahexaenóico (C22:6) *n*3 (SPRECHER, 2000), ambos importantes constituintes da membrana celular (JUMP, 2004).

A alteração nos níveis de alguns ácidos graxos livres circulantes provenientes da ingestão excessiva de gordura dietética, e/ou a partir dos estoques de gordura corporal, pode estar relacionada com o surgimento de desordens metabólicas como redução na sensibilidade à ação da insulina em músculo esquelético e tecido adiposo (BODEN, 2003), considerados importantes sítios de captação de glicose em resposta ao estímulo insulínico (MACHADO et al., 2006). Ambos tecidos expressam duas isoformas de proteínas transportadoras de glicose, o GLUT1, principal responsável pelo transporte deste substrato no estado basal, e o GLUT4, responsável pelo transporte em resposta a estímulos específicos (MACHADO, 1998).

A isoforma GLUT4, cujo gene é denominado *Slc2a4* (JOOST e THORENS, 2001) está expressa predominantemente, mas não exclusivamente, nestes tecidos. Em resposta ao estímulo insulínico, que ocorre pela ligação da insulina ao seu receptor de membrana plasmática e consequentes fosforilações intracelulares (CARVALHEIRA et al., 2002; SALTIEL e KANH, 2001), vesículas contendo este transportador translocam-se, ancoram-se e fundem-se na membrana plasmática aumentando a densidade de GLUT4 e a captação de glicose (BRADY; PESSIN; SALTIEL, 1999; KOISTINEN e ZIERATH, 2002; MACHADO, SHIMIZUI, SAITO, 1994). A redução na expressão gênica e/ou na densidade deste transportador na superfície celular pode estar relacionada com resistência à insulina (THORENS; CHARRON; LODISH, 1990).

Estudos clássicos já demonstravam a atuação dos ácidos graxos no desencadeamento de alterações na sensibilidade à insulina. Randle et al. (1963) determinaram, em amostras dos músculos cardíaco e diafragmático de ratos, que o acúmulo intracelular de produtos oriundos da oxidação de ácidos graxos altera a atividade de enzimas pertencentes à via glicolítica, com consequente aumento na concentração intracelular de glicose-6-fosfato (G6P), um inibidor alostérico da hexoquinase, e diminuição na captação celular de glicose.

Dresner et al. (1990) utilizando amostras de músculo esquelético de indivíduos normais submetidos à *clamp* euglicêmico-hiperinsulinêmico e concomitante infusão de lípidos, verificaram uma diminuição na concentração de G6P e de glicose intracelular; e a estas observações atribuíram um possível papel dos ácidos graxos na alteração do transporte de glicose, via GLUT4, e/ou propagação do sinal da insulina.

Ácidos graxos e/ou seus metabólitos bioativos podem controlar a transcrição gênica, regulando a estabilidade de mRNAs e a participação de fatores transcripcionais como, PPARs (do inglês, *peroxisome proliferator-activated receptors*), LXR $\alpha$  (do inglês, *liver X receptor  $\alpha$* ), HNF4 (do inglês, *hepatocyte nuclear factor  $\alpha$  e  $\gamma$* ), RXR $\alpha$  (do inglês, *retinoic X receptor  $\alpha$* ), SREBPs (do inglês, *sterol regulatory element binding proteins*), NF- $\kappa$ B (do inglês, *nuclear factor kappa B*) e HIF-1 $\alpha$  (do inglês, *hypoxia inducible factor-1 $\alpha$* ) (JUMP, 2004), já descritos como reguladores do gene *Slc2a4*.

Entre todos os fatores transcricionais regulados por ácidos graxos e/ou por seus metabólitos bioativos, a família dos PPARs é a mais estudada (PÉRGORIER; LE; GIRARD, 2004).

Descoberta em meados dos anos 90 a isoforma PPAR $\gamma$  se expressa predominantemente nos tecidos adiposo, branco e marrom, intestino grosso e baço, mas também é encontrada em músculo esquelético (FAJAS et al., 1997). Atualmente, três subtipos de PPAR $\gamma$  já foram identificados e classificados como  $\gamma$ 1,  $\gamma$ 2 e  $\gamma$ 3 (FAJAS et al., 1997; FAJAS; FRUCHART; AUWERX, 1998); apenas as isoformas 1 e 2 expressam-se no músculo esquelético (ARMONI; HAREL; KARNIELI, 2007; FAJAS et al., 1997). Entre as inúmeras funções de PPAR $\gamma$  destacam-se a sua participação no controle da diferenciação dos adipócitos, da resposta inflamatória e do metabolismo lipídico (DESVERGENE et al., 1998; TAKAHASHI e KAWADA, 2001) e glicídico (ARMONI et al., 2003).

A ação de PPAR $\gamma$  na regulação da expressão gênica pode ocorrer por transativação ou transrepressão. A transativação consiste na ativação deste fator transcricional por agonistas endógenos e/ou sintéticos com posterior recrutamento de co-ativadores, dimerização a RXR $\alpha$  e ligação ao seu elemento responsivo PPRE (do inglês, *PP responsive element*) em genes alvo (CHIARELLI e MARZIO, 2008) como *Slc2a4*, cujo sítio de ligação foi determinado em meados de 2003 (ARMONI et al., 2003). Por outro lado, a transrepressão é um mecanismo pelo qual o PPAR $\gamma$  inibe a atividade transcricional de proteínas como NF- $\kappa$ B, por se associar diretamente a elas e não ao DNA (CHIARELLI e MARZIO, 2008).

Os medicamentos pertencentes à classe das Tiazolidinedionas (TZDs), bem como os produtos derivados do aminoácido L-tirosina, GI262570, GW1929 e GW7845, são considerados importantes ativadores sintéticos de PPAR $\gamma$ . Entre os agonistas naturais destacam-se o prostanóide 15-deoxi- $\Delta^{12,14}$  prostaglandina J<sub>2</sub> (15d-PGJ<sub>2</sub>) e também produtos derivados da via da lipoxigenase como 9 e 13-hidroxiocetadecadienóico (9 e 13 HODE) e 15-hidroxi-eicosatetraenóico (15-HETE) (KLIEWER et al., 2001). Ao contrário do ácido graxo monoinsaturado oléico e de alguns poliinsaturados pertencentes à família *n*6, com exceção do ácido graxo araquidônico (C20:4), ácidos graxos pertencentes à família *n*3 como, eicosapentaenóico (C20:5), docosahexaenóico (C22:6) e gama e alfa linolênico (C18:3) são muito efetivos na ativação de PPAR $\gamma$  (DESVERGENE e WAHLI, 1999; XU et al., 1999).

Além dos aspectos sobreditos, a atividade deste fator transcricional também pode ser controlada por meio da ação de cinases como ERK-MAPK (do inglês, *extracellular receptor kinase-mitogen activated protein kinase*) e AMPK (do inglês, *5'-AMP-activated protein kinase*) (BURNS e HEUVEL, 2007).

O LXR $\alpha$  é outro importante regulador transcricional que deve ser ressaltado. Está expresso predominantemente no fígado, intestino, rim, baço e tecido adiposo, mas também se encontra no músculo esquelético (BARANOWSKI 2008; KASE et al., 2005). Embora três isoformas de LXR $\alpha$  já tenham sido identificadas, apenas a denominada  $\alpha 1$  possui uma importante atividade transcricional (WÓJCICKA et al., 2007). É como heterodímero junto a RXR $\alpha$ , que o LXR $\alpha$  se liga ao seu elemento responsivo (LXRE), modulando a expressão de inúmeros genes envolvidos no metabolismo de lípides e de colesterol como, SREBP-1c, ácido graxo sintase e esteroil-CoA desaturase (BARANOWSKI, 2008); também de carboidratos como, GLUT4 e GLUT1, no músculo esquelético (KASE et al., 2005) e tecido adiposo (JUMP, 2002; PÉRGORIER; LE; GIRARD, 2004; SAMPATH et al., 2004).

Dalen et al. (2003) mostraram, em adipócitos de humanos e de camundongos, a presença de elemento responsivo para LXR $\alpha$  no promotor do gene *Slc2a4*. Kase et al. (2005), utilizando cultura de células musculares humanas incubadas com ativador de LXR $\alpha$ , mostraram aumento na expressão de inúmeros genes, dentre os quais PPAR $\gamma$ , SREBP-1c, GLUT4 e GLUT1.

Alguns oxisteróis como 22(R) hidroxicolesterol e 24(S) hidroxicolesterol são considerados importantes agonistas endógenos de LXR $\alpha$ . Contrariamente, ácidos graxos poliinsaturados pertencentes às famílias, *n*3 como eicosapentaenóico (C20:5) e docosahexaenóico (C22:6) e *n*6 como araquidônico (C20:4) e linoléico (C18:2) são considerados inibidores competitivos de LXR $\alpha$ , uma vez que impedem a ligação dos oxisteróis. Ácidos graxos monoinsaturados possuem um efeito mínimo nesta inibição já os saturados não participam na regulação deste mecanismo (WÓJCICKA, 2007).

O SREBP faz parte de uma família de fatores de transcrição conhecida como bHLH-Zip (do inglês, *basic helix-loop-helix-leucine zipper*). Até o momento, três isoformas de SREBP já foram identificadas e denominadas: 1a, 1c e 2 (HUA et al., 1993; YOKOYAMA et al., 1993). Expressam-se predominantemente no fígado e tecido adiposo (IM et al., 2007) mas também são encontrados no músculo esquelético (COMMERFORD et al., 2004).



Ácidos graxos poliinsaturados (eicosapentaenóico, araquidônico e linoléico) ou monoinsaturado (oléico), atuam na regulação da expressão gênica da isoforma SREBP-1c (JUMP, 2002; PÉRGORIER; LE; GIRARD, 2004). Em amostras de tecido adiposo provenientes de ratos realimentados após jejum de 24 horas e de ratos diabéticos submetidos à insulino-terapia, um aumento na expressão de SREBP-1c foi relacionado com um aumento de GLUT4 neste tecido. Ao mesmo tempo o SRE (do inglês, *sterol-response element*) foi mostrado no gene *Slc2a4*, reforçando a possível ação deste fator transcricional no controle da expressão do GLUT4 (IM et al., 2006).

Diferente dos outros fatores transcricionais já citados, a expressão de SREBP envolve um mecanismo complexo dependente do *pool* intracelular de esteróis. A proteína inicialmente encontra-se na forma de uma molécula precursora associada à membrana do retículo endoplasmático (RE) e composta por dois domínios organizados denominados amino e carboxi-terminal. Ao domínio carboxi-terminal encontra-se associada a SCAP (do inglês, *cleavage-activating protein*). Em células ricas em esteróis, o complexo SCAP/SREBP mantém-se ligado a uma proteína constitutiva denominada Insig (do inglês, *insulin-induced gene*), cuja função é impedir a interação deste complexo com proteínas relacionadas com a síntese de vesículas de transporte denominadas, COPII (do inglês, *cargo-selection proteins*). Por meio deste mecanismo, a forma precursora de SREBP é mantida. Entretanto, com a depleção dos níveis de esteróis a ligação entre Insig-SCAP/SREBP é rompida e desta forma o complexo é “captado” por COPII e transportado ao complexo de golgi (CG). Neste local por ação de duas proteases há a liberação do domínio amino-terminal de SREBP responsável pela sua atividade transcricional que consiste na ligação, como dímero, ao seu elemento responsivo localizado em genes envolvidos no controle do metabolismo lipídico, de colesterol e glicídico (ESPENSHADE, 2006; HORTON, 2002).

O NF- $\kappa$ B e o HIF-1 $\alpha$ , ambos relacionados com a expressão gênica de GLUT4 (SILVA et al., 2005), também possuem os ácidos graxos e/ou seus metabólitos bioativos como possíveis reguladores de sua atividade e/ou expressão.

A família do NF- $\kappa$ B é composta por cinco membros denominados, RelA (p65), RelB, c-Rel, NF- $\kappa$ B1 (p50/p105) e NF- $\kappa$ B2 (p52/p100). Ambas as subunidades p50 e p52 são sintetizadas a partir de proteínas precursoras longas, p105 e p100. Em geral, a forma ativa de NF- $\kappa$ B consiste de um heterodímero composto pela subunidade p65 associada à p50 ou p52. Na maioria das células, este heterodímero

reside no citosol associado a um inibidor protéico, I $\kappa$ B (do inglês, *inhibitors of NF- $\kappa$ B*). Em mamíferos, há três principais isoformas de I $\kappa$ B: I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ , I $\kappa$ B $\epsilon$ . A ativação de NF- $\kappa$ B tipicamente envolve a fosforilação de I $\kappa$ B pelo complexo I $\kappa$ B cinase (do inglês, *I $\kappa$ B kinase*), composto por IKK $\alpha$ , IKK $\beta$  e IKK $\gamma$  (NEMO). Pela via clássica de ativação de NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B ao ser fosforilado, dissocia-se das subunidades heterodiméricas de NF- $\kappa$ B sendo direcionado à degradação proteossomal. Como consequência o NF- $\kappa$ B migra ao núcleo onde se liga as sequências de DNA, conhecidas como sítios  $\kappa$ B, localizadas nas regiões promotoras de genes relacionados a apoptose, adesão celular, resposta imune, inflamação, estresse celular e remodelamento tecidual. É importante ressaltar que a expressão desses genes é também dependente da ação de outras vias de sinalização e fatores de transcrição. Assim, os resultados da ativação de NF- $\kappa$ B dependerão da natureza e do contexto da célula (PERKINS, 2007).

Ácidos graxos e/ou produtos derivados do seu metabolismo celular podem modular a atividade de cinases envolvidas na regulação da atividade de NF- $\kappa$ B (CHAVEZ et al., 2003; FURUKAWA et al., 2004; MONTELL et al., 2001; WORGALL et al., 1998).

A atuação de NF- $\kappa$ B na regulação do gene *Slc2a4* foi sugerida em meados de 2002 (RUAN et al., 2002). Silva et al. (2005) relacionaram o aumento no nível do mRNA e na atividade de ligação ao DNA de NF $\kappa$ B, com a diminuição na expressão gênica de GLUT4 em amostras de músculo solear de ratos jejuados. Além disto, a repressão na expressão do gene *Slc2a4* já foi relacionada com aumento no conteúdo de IL-6 do (inglês, *interleucin 6*) devido ativação da via PKC/NF- $\kappa$ B por palmitato, em células musculares C2C12 (JOVÉ et al., 2005).

O HIF faz parte de uma família de fatores transcricionais, bHLH-PAS (do inglês, *basic helix-loop-helix-Per-ARNT-Sim*), que se associam ao DNA como heterodímero. É composto por uma subunidade  $\alpha$ , sensível aos níveis de oxigênio e uma  $\beta$ , constitutiva. Três subunidades alfa já foram identificadas e denominadas 1 $\alpha$ , 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , sendo todas passíveis de sofrerem degradação proteossomal (KE e COSTA, 2006).

Em situações de hipóxia a proteína HIF-1 $\alpha$  torna-se estável e transloca ao núcleo onde dimeriza com a isoforma HIF1 $\beta$  regulando a expressão de genes relacionados com a angiogênese, eritropoiese, glicólise e captação de glicose. Embora a tensão de oxigênio seja o principal regulador da ação de HIF-1 $\alpha$ , fatores

de crescimento e ambientais, insulina, citocinas, espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico (KE e COSTA, 2006; SEMENZA, 2000; ZELZER et al., 1998) parecem controlar este fator de transcrição. Cabe ressaltar que em situações de normóxia, a expressão da isoforma 1 $\alpha$  torna-se praticamente indetectável, devido efeitos que a direcionam para degradação proteosomal (KE e COSTA, 2006).

A participação do fator transcricional HIF-1 $\alpha$  na regulação da transcrição gênica das isoformas 1 e 3 dos transportadores de glicose foi descrita em meados dos anos 90 (EBERT et al., 1996). Posteriormente foi proposta sua atuação na expressão de GLUT4 (SILVA, 2005) após ser observado aumento do mRNA de GLUT4 e de HIF-1 $\alpha$  em músculo solear, mediante estímulo de contração *in vitro*. Embora a regulação deste fator transcricional por ácidos graxos e/ou seus metabólitos não esteja elucidada, suas características transcricionais o tornam um alvo promissor de investigação.

Há anos acreditava-se que a regulação de genes relacionados ao estado nutricional era única e exclusivamente controlada por hormônios e/ou pelo sistema nervoso. Atualmente, além destes mecanismos, sabe-se que os próprios nutrientes podem participar desta regulação.

Além de abundantes no meio intracelular (GORSKI; NARWROCKI; MURTHY, 1998), os ácidos graxos monoinsaturado oléico e poliinsaturado linoléico encontram-se em grande quantidade no soro (FÉRNANDEZ-REAL et al., 2003) e contribuem para o acúmulo de gordura em diferentes tecidos como músculo esquelético e fígado, circunstâncias nas quais desempenham importante papel fisiopatológico.

A literatura ainda oferece dados incompletos a respeito dos mecanismos moleculares capazes de explicar a verdadeira atuação dos diferentes ácidos graxos na regulação da expressão gênica do GLUT4 e na sensibilidade à insulina. Desta forma, credita-se à elucidação dos efeitos destas biomoléculas na regulação da expressão do GLUT4 a prevenção e/ou tratamento de doenças relacionadas com o quadro de resistência à insulina.

O músculo esquelético é o principal sítio de captação de glicose sob estímulo insulínico (ZORZANO; PALACIN; GUMÁ, 2005). Mioblastos da linhagem L6, obtidos a partir de células musculares glicolíticas de ratos (*rattus norvegicus*), são capazes de diferenciarem-se em miotubos que expressam GLUT4 (MITSUMOTO e KLIP, 1992), semelhantes à célula muscular madura, e por isto são utilizados para investigar mecanismos relacionados à musculatura esquelética.

Diante dos fatos aqui expostos, hipotetizamos que os ácidos graxos possam acionar mecanismos transcricionais específicos capazes de regular a expressão do transportador de glicose GLUT4 em músculo esquelético, e assim contribuir na modulação da homeostasia glicêmica.

## CONCLUSÃO

Os ácidos graxos monoinsaturado oléico e poliinsaturado linoléico reprimem cronicamente a expressão do GLUT4. Este efeito advém de um aumento e diminuição na ligação dos fatores transcricionais NF- $\kappa$ B e SREBP-1 respectivamente, aos seus sítios de ligação específicos localizados na região promotora do gene *Slc2a4*.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

AAS, V.; ROKLING-ANDERSEN, M. H.; KASE, E. T.; THORESEN, G. H.; RUSTAN, A. C. Eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) increases fatty acid and glucose uptake in cultured human skeletal muscle cells. **J. Lip. Res.**, v. 47, p. 366-374, 2006.

ALVES-WAGNER, A. B.; DE FREITAS, H. S.; DE SOUZA, P. B.; SERAPHIM, P. M.; MORI, R. C.; MACHADO, U. F. Beta-adrenergic activity preserves GLUT4 protein in glycolytic fibers in fasting. **Muscle Nerve**, v. 40, p. 847-854, 2009.

ARMONI, M.; KRITZ, N.; HAREL, C.; YOSEPH-BAR, F.; CHEN, H.; QUON, M. J.; KARNIELI, E. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  represses GLUT4 promoter activity in primary adipocytes, and rosiglitazone alleviates this effect. **J. Biol. Chem.**, v. 278, n. 3, p. 30614-30623, 2003.

ARMONI, M.; HAREL, C.; YOSEPH-BAR.; MILO, S.; KARNIELI, E. Free fatty acids repress the GLUT4 gene expression in cardiac muscle via novel response elements. **J. Biol. Chem.**, v. 280, n.41, p. 34786-34795, 2005.

ARMONI, M.; HAREL, C.; KARNIELI, E. Transcriptional regulation of the GLUT4 gene: from PPAR $\gamma$  and FOXO1 to FFA and inflammation. **TRENDS Endocrinol. Metab.**, v.18, n. 3, p. 100-107, 2007.

BARANOWSKI M. Biological role of liver X receptors. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 59, p. 31-55, 2008.

BARMA, P.; BHATTACHARYA, S.; BHATTACHARYA, A.; KUNDU, R.; DASGUPTA, S.; BISWAS, A.; BHATTACHARYA, S.; ROY, S. S.; BHATTACHARYA, S. Lipid induced overexpression of NF-kappaB in skeletal muscle cells is linked to insulin resistance. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1792, n. 3, p. 190-200, 2009.

BARROS, R. P.; MORANI, A.; MORISCOT, A.; MACHADO, U. F. Insulin resistance of pregnancy involves estrogen-induced repression of muscle GLUT4. **Mol. Cell. Endocrinol.**, v. 295, p. 24-31, 2008.

BELL, M.; WANG, H.; CHEN, H.; McLENITHAN, J. C.; GONG, D. W.; YANG, R. Z.; YU, D.; FRIED, S. K.; QUON, M. J.; LONDOS, C.; SZTALRYD, C. Consequences of lipid droplet coat protein downregulation in liver cells: abnormal lipid droplet metabolism and induction of insulin resistance. **Diabetes**, v. 57, n. 8, p. 2037-2045, 2008.

BLOCH-DAMTI A.; BASHAN N. Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. **Antioxid. Redox Signal.**, v. 7, n. 11-12, p. 1553-1567, 2005.

---

<sup>1</sup> De acordo:

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

BODEN, G. Effects of free fatty acids (FFA) on glucose metabolism: significance for insulin resistance and type 2 diabetes. **Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes**, v. 111, n. 3, p. 121-124, 2003.

BRADY, M. J.; PESSIN, J. E.; SALTIEL, R. Spatial compartmentalization in the regulation of glucose metabolism by insulin. **T. E. M.**, v. 10, p. 408-413, 1999.

CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. A. Via de Sinalização da Insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 46, n. 4, p. 419-423, 2002.

CHAVEZ, J. A.; KNOTTS, T. A.; WANG, L. P.; LI, G.; DOBROWSKY, R. T.; FLORANT, G. L.; SUMMERS, S. A. **J. Biol. Chem.**, v. 278, n. 12, p. 10297-10303, 2003.

CHIARELLI, F.; MARZIO, D. D. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  agonists and diabetes: Current and evidence and future perspectives. **Vascular Health and Risk and Management**, v. 4, n. 2, p. 297-304, 2008.

COMMERFORD, S. R.; PENG, L.; DUBÉ, J. J.; O'DOHERTY, R. M. In vivo regulation of SREBP-1c in skeletal muscle: effects of nutritional status, glucose, insulin and leptin. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 287, p. 218-227, 2004.

DALEN, K. T.; ULVEN, S. M.; BAMBERG, K.; GUSTAFSSON, J-A; NEBB, H. I. Expression of the insulin responsive glucose transporter GLUT4 in adipocytes is dependent on liver X receptor  $\alpha$ . **J. Biol. Chem.**, v. 278, n.48, p. 48283-48291, 2003.

DESVERGENE B.; WAHLI, W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. **Endocr. Rev.**, v. 20, n. 5, p. 649-688, 1999.

DESVERGENE, B.; IJPENBERG, A.; DEVCHAND, P. R.; WAHLI, W. The peroxisome proliferator-activated receptors at the cross-road of diet and hormonal signaling. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 65, p. 65-74, 1999.

DIMOPOULOS, N.; WATSON, M.; SAKAMOTO, K.; HUNDAL, H. S. Differential effects of palmitate and palmitoleate on insulin action and glucose utilization in rat L6 skeletal muscle cells. **Biochem. J.**, v. 399, p. 473-481, 2006.

DRESNER, A.; LAURENT D.; MARCUCCI, M.; GRIFFIN, M. E.; DUFOUR, S.; CLINE, G. W.; SLEZAK, L. A.; ANDERSEN, D. K.; HUNDAL, R. S.; ROTHMAN, D. L.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1 associated phosphatidylinositol 3-Kinase activity. **J. Clin. Invest.**, v. 103, p. 253-259, 1990.

EBERT, B. L.; GLEADLE, J. M.; O'ROURKE, J.; BARTLETT, S. M.; POUTON, J.; RATCLIFFE, P. J. Isoenzyme specific regulation of genes involved in energy metabolism by hypoxia: similarities with the regulation of erythropoietin. **Biochem. J.**, v. 313, p. 809-8147, 1996.

ESPENSHADE, P. J. SREBPs: sterol-regulated transcription factors. **J. Cell Sci**, v. 119, p. 973-976, 2006.

FABRIS R.; ENZO, N.; LOMBARDI, A. M.; TONELLO, C.; SERRA, R.; GRANZOTTO, M.; CUSIN, I.; ROHNER-JEANRENAUD, F.; FEDERSPIL, G.; CARRUBA, M. O.; VETTOR, R. Preferential channeling of energy fuels toward fat rather than muscle during high free fatty acid availability in rats. **Diabetes**, v. 50, p. 601-608, 2001.

FAJAS, L.; AUBOEUF, D.; RASPÉ, E.; SCHOONJANS, K.; LEFEBVRE, A-M.; SALADIN, R.; NAJIB, J.; LAVILLE, M.; FRUCHART, J-C.; DEEB, S.; VIDAL-PUIG, A.; FLIER, J.; BRIGGS, M. R.; STAELS, B.; VIDAL, H.; AUWERX, J. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR $\gamma$  gene. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n. 30, p. 18779-18789, 1997.

FAJAS, L.; FRUCHART, J-C.; AUWERX, J. PPAR $\gamma$ 3 mRNA: a distinct PPAR $\gamma$  mRNA subtype transcribed from an independent promoter. **FEBS**, v. 438, p. 55-60, 1998.

FERNÁNDEZ-REAL, J. M.; BROCH, M.; VENDRELL, J.; RICART, W. Insulin resistance, inflammation, and serum fatty acid composition. **Diabetes Care**, v. 26, n. 5, p. 1362-1368, 2003.

FURUKAWA, S.; FUJITA T.; SHIMABUKURO, M.; MASANORI, I.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **J. Clin. Invest.**, v. 114, n. 12, p. 1752-1761, 2004.

FURUYA, D. T.; POLETTO, A. C.; MACHADO, U. F. Obesidade x Resistência à insulina x Inflamação. Identificação de dois sítios de ligação de NF $\kappa$ B na região promotora do gene do GLUT4. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, v. 52, p. S171, 2008. Suplemento.

GALLIE D. R. A tale of two termini: A functional interaction between the termini of an mRNA is a prerequisite for efficient translation initiation. **Gene**, v. 216, p. 1-11, 1998.

GAO, Z.; ZHANG, X.; ZUBERI, A.; HWANG, D.; QUON, M. J.; LEFEVRE, M.; YE, J. Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. **Mol. Endocrinol.**, v. 18, n. 8, p. 2024-2034, 2004.

GARFIN, D. E. One-dimensional gel electrophoresis. **Methods Enzimol.**, v. 182, p. 425-441, 1990.

GORSKI, J.; NARWROCKI, A.; MURTHY, M. Characterization of free and glyceride-esterified long chain fatty acids in different skeletal muscle types of the rat. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 178, n. 1-2, p. 113-118, 1998.

GRIFFIN, M. E.; MARCUCCI, M. J.; CLINE, G. W.; BARUCCI, N.; LEE, D.; GOODYEAR, L. J.; KRAEGEN, E. W.; WHITE, M. F.; SHULMAN, G. I. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activity of protein kinase C  $\theta$  and alterations in the insulin signaling cascade. **Diabetes**, v. 48, p. 1270-1274, 1999.



HAN, P.; ZHANG, Y.-Y.; LU, Y.; HE, B.; ZHANG, W.; XIA, F. Effects of different free fatty acids on insulin resistance in rats. **Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.**, v. 7, n. 1, p. 91-96, 2008.

HANNAH, V. C.; OU, J.; LUONG, A.; GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. Unsaturated fatty acids down-regulate srebp isoforms 1a and 1c by two mechanisms in HEK-293 cells. **J. Biol. Chem.**, v. 276, n. 6, p. 4365-4372, 2000.

HIRABARA, S. M.; CURI, R.; MAECHLER, P. Saturated fatty acid-induced insulin resistance is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells. **J. Cell. Physiol.**, v. 222, p. 187-194, 2010.

HOMMELBERG, P. P.; PLAT, J.; LANGEN, R. C.; SCHOLS, A. M.; MENSINK, R. P. Fatty acid-induced NF-kappaB activation and insulin resistance in skeletal muscle are chain length dependent. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 296, n. 1, p. 114-120, 2009.

HORTON, J. D. Sterol regulatory element-binding proteins: transcriptional activators of lipid synthesis. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 30, p. 1091-1095, 2002.

IM, S. S.; KWON, S. K.; KANG, S. Y.; KIM, T. H.; KIM, H. I.; HUR, M. W.; KIM, K. S.; AHN, Y. H. Regulation of GLUT4 gene expression by SREBP-1c in adipocytes. **Biochem. J.**, v. 399, p. 131-139, 2006.

IM, S-S.; KWON, S-K.; KIM, T-H.; KIM, H-il.; AHN, Y-H. Regulation of glucose transporter type 4 isoform gene expression in muscle and adipocytes. **IUBMB Life**, v. 59, n. 3, p. 134-145, 2007.

IMBERT, V.; RUPEC, R. A.; LIVOLSI, A.; PAHL, H. L.; TRAENCKNER, E. B.; MUELLER-DIECKMANN, C.; FARAHIFAR, D.; ROSSI, B.; AUEBERGER, P.; BAEUERLE, P. A.; PEYRON, J. F. Tyrosine phosphorylation of I kappa B-alpha activates NF-kappa B without proteolytic degradation of I kappa B-alpha. **Cell**, v. 86, n. 5, p. 787-798, 1996.

ITANI, S. I.; RUDERMAN, N. B.; SCHMIEDER, F.; BODEN, G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I kappa B-alpha. **Diabetes**, v. 51, n. 7, p. 2005-2011, 2002.

JOVÉ, M.; PLANAVILA, A.; LAGUNA, J. C.; VÁZQUEZ-CARRERA, M. Palmitate induced interleukin 6 production is mediated by protein kinase C and Nuclear Factor kB activation and leads to glucose transporter 4 down-regulation in skeletal muscle cells. **Endocrinology**, v. 146, n. 7, p. 3087-3095, 2005.

JOVÉ, M.; PLANAVILA, A.; SÁNCHEZ, R. M.; MERLOS, M.; LAGUNA, J. C.; VÁZQUEZ-CARRERA, M. Palmitate induces tumor necrosis factor- $\alpha$  expression in C2C12 skeletal muscle cells by a mechanism involving protein kinase C and nuclear factor- $\kappa$ B activation. **Endocrinology**, v. 147, n. 1, p. 552-561, 2006.

JOOST, H.; THORENS, B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence, characteristics, and potential function of its novel members (Review). **Mol. Membr. Biol.**, v. 18, p. 247-256, 2001.

JUMP, D. B. Dietary polyunsaturated fatty acids and regulation of gene transcription. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 13, p. 155-164, 2002.

JUMP, D. B. Fatty acid regulation of gene expression. **Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.**, v. 41, n. 1, p. 41-78, 2004.

KASE, E. T.; WENSAAS, A. J.; AAS, V.; HOJLUND, K.; LEVIN, K.; THORESEN, G. H.; BECK-NIELSEN, H.; RUSTAN, A. C.; GASTER, M. Skeletal muscle lipid accumulation in type 2 diabetes may involve the Liver X Receptor pathways. **Diabetes**, v. 54, p. 1108-1115, 2005.

KAWAMOTO, E. M.; LEPSCH, L. B.; BOAVENTURA, M. F.; MUNHOZ, C. D.; LIMA, L. S.; YSHII, L. M.; AVELLAR, M. C.; CURI, R.; MATTSON, M. P.; SCAVONE, C. Amyloid beta-peptide activates nuclear factor-kappaB through an N-methyl-D-aspartate signaling pathway in cultured cerebellar cells. **J. Neurosci.**, v. 28, p. 845-860, 2008.

KE, Q.; COSTA, M. Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1). **Mol. Pharmacol.**, v. 70, n. 5, p. 1469-1480, 2006.

KLIEWER, S. A.; SUNDSETH, S. S.; JONES, S. A.; BROWN, P. J.; WISELY, G. B.; KOBLE, C. S.; DEVCHAND, P.; WAHLI, W.; WILLSON, T. M.; LENHARD, J. M.; LEHMANN, J. M. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\gamma$ . **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 94, p. 4318-4323, 1997.

KLIEWER, S. A.; XU, H. E.; LAMBERT, M. H.; WILLSON, T. M. Peroxisome proliferator-activated receptors: from genes to physiology. **Recent. Prog. Horm. Res.**, v. 56, p. 239-263, 2001.

KLIP A.; TSAKIRIDIS T.; MARETTE A.; ORTIZ P. A. Regulation of expression of glucose transporters by glucose: a review of studies in vivo and in cell cultures. **FASEB J.**, v. 8, p. 43-53, 1994.

KOISTINEN, H. A.; ZIERATH, J. R. Regulation of glucose transport in human skeletal muscle. **Ann. Med.**, v. 34, p. 410-418, 2002.

LEE, J. N.; ZHANG, X.; FERAMISCO, J. D.; GONG, Y.; YE, J. Unsaturated fatty acids inhibit proteasomal degradation of Insig 1 at a postubiquitination step. **J. Biol. Chem.**, v. 283, n. 48, p. 33772-33783, 2008.

LI, Q.; VERMA, I. M. NF- $\kappa$ B regulation in the immune system. **Nature Reviews**, v. 2, p. 725-734, 2002.

LONG, S. D.; PEKALA, P. H. Regulation of GLUT4 gene expression by arachidonic acid. Evidence for multiple pathways, one of which requires oxidation to prostaglandin E2. **J. Biol. Chem.**, v. 271, n. 2, p. 1138-1144, 1996.

MACHADO, U. F.; SHIMIZU, I.; SAITO, M. Reduced content and preserved translocation of glucose transporter (GLUT4) in white adipose tissue of obese mice. **Physiol. Behav.**, v. 55, n. 4, p. 621-625, 1994.

MACHADO, U. F. Transportadores de glicose. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 42, n. 6, p. 413-421, 1998.

MACHADO, U. F.; SCHAAN, B. D.; SERAPHIM, P. M. Transportadores de glicose na síndrome metabólica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 2, p. 177-189, 2006.

MATER, M. K.; THELEN, A. P.; PAN, D. A.; JUMP, D. B. Sterol response element-binding protein 1c (SREBP-1c) is involved in the polyunsaturated fatty acid suppression hepatic S14 gene transcription. **J. Biol. Chem.**, v. 274, n. 46, p. 32725-32732, 1999.

MITSUMOTO Y.; KLIP, A. Developmental regulation of the subcellular distribution and glycosilation of GLUT1 and GLUT4 glucose transporters during myogenesis of L6 muscle cells. **J. Biol. Chem.**, v. 267, n. 7, p. 4957-4962, 1992.

MONTELL, E.; TURINI, M.; MAROTTA, M.; ROBERTS, M.; NOÉ, V.; CIUDAD, C. J.; MACÉ, K.; GÓMEZ-FOIX, A. M. DAG accumulation from saturated fatty acids desensitizes insulin stimulation of glucose uptake in muscle cells. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 280, n. 2, p. E229-237, 2001.

NUGENT, C.; PRINS, J. B.; WHITEHEAD, J. P.; WENTWORTH, J. M.; CHATTERJEE, V. K. K.; O'RAHILLY, S. Arachidonic acid stimulates glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes by increasing GLUT1 and GLUT4 levels at the plasma membrane. **J. Biol. Chem.**, v. 276, n. 12, p. 9149-9157, 2001.

OU, J.; TU, H.; SHAN, B.; LUK, A.; DEBOSE-BOYD, R. A.; BASHMAKOV, Y.; GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. Unsaturated fatty acids inhibit transcription of the sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) gene by antagonizing ligand-dependent activation of the LXR. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 98, n. 11, p. 6027-6032, 2001.

PAGÉ, E. L.; ROBITAILLE, G. A.; POUYSSÉGUR, J.; RICHARD, D. E. Induction of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  by transcriptional and translational mechanisms. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n. 50, p. 48403-48409, 2002.

PARK, J-Y.; KIM, Y. M.; SONG, H. S.; PARK, K. Y.; KIM, Y. M.; KIM, M. S.; PAK, Y. K.; LEE, I. K.; LEE, J. D.; PARK, S-J.; LEE, K-U. Oleic acid induces endothelin-1 expression through activation of protein kinase C and NF- $\kappa$ B. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 303, p. 891-895, 2003.

PÉRGORIER, J. P.; LE MAY C.; GIRARD, J. Control of gene expression by fatty acids. **J. Nutr.**, v. 134, n. 9, p. 2444S-2449S, 2004.

PERKINS, N. D. Integrating cell-signalling pathways with NF- $\kappa$ B and IKK function. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 8, p. 49-67, 2007.

RANDLE, P. J.; HALES, C. N.; GARLAND, P. B.; NEWSHOLME, E. A. The Glucose Fatty- Acid Cycle. It's role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. **Lancet**, v. 1, p. 785- 789, 1963.

REGAZZETTI, C.; PERALDI, P.; GRÉMEAUX, T.; NAJEM-LENDOM, R.; BEM-SAHRA, I.; CORMONT, M.; BOST, F.; BRUSTEL-MARCHAND, Y. L.; TANTI, J-F.; GIORGETTI-PERALDI, S. Hypoxia decreases insulin signaling pathways in adipocytes. **Diabetes**, v. 58, p. 95-103, 2009.

RUAN, H.; HACOEN, N.; GOLUB, T. R.; VAN PARIS, L.; LODISH, H. F. Tumor necrosis factor- $\alpha$  supresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes. Nuclear factor-  $\kappa$ B activation by TNF- $\alpha$  is obligatory. **Diabetes**, v. 51, p. 1319-1336, 2002.

SALLÉS F. J.; RICHARDS W. G.; STRICKLAND S. Assaying the polyadenylation state of mRNAs. **Methods**, v. 17, p. 38-45, 1999.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, p. 799–805, 2001.

SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. **Nutr. Rev.**, v. 62, n. 9, p. 333-339, 2004.

SAVAGE, D. B.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. **Physiol. Rev.**, v. 87, p. 507-520, 2007.

SEMENZA, G. L. Expression of hypoxia-inducible factor 1: mechanisms and consequences. **Biochem. Pharmacol.**, v. 59, n. 1, p. 47-53, 2000.

SERAPHIM P. M.; NUNES M. T.; GIANNOCO G.; MACHADO U. F. Age related obesity-induced shortening of GLUT4 mRNA poly (A) tail length in rat gastrocnemius skeletal muscle. **Mol. Cell. Endocrinol.**, v. 276, p. 80-87, 2007.

SESTI, G. Pathophysiology of insulin resistance. **Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 20, n. 4, p. 665-679, 2006.

SILVA, J. L. T.; GIANNOCO, G.; FURUYA, D. T.; LIMA, G. A.; MORAES, P. A. C.; NACHEF, S.; BORDIN, S.; BRITTO, R. G.; NUNES, M. T.; MACHADO, U. F. NF- $\kappa$ B, MEF2A and HIF1- $\alpha$  involvement on insulin- and contraction-induced regulation of GLUT4 gene expression in soleus muscle. **Mol. Cell. Endocrinol.**, v. 240, n. 1-2, p. 1-12, 2005.

SINHÁ, S.; PERDOMO, G.; BROWN, N. F.; O'DOHERTY, R. M. Fatty acid-induced insulin resistance in L6 myotubes is prevented by inhibition of activation and nuclear localization of nuclear factor  $\kappa$ B. **J. Biol. Chem.**, v. 279, n. 40, p. 41294-41301, 2004.

SPRECHER, H. Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acid. **Biochem. Biophys. Acta.**, v. 1486, p. 219-231, 2000.

STORLIEN, L. H.; JENKINS, A. B.; CHISHOLM, D. J.; PASCOE, W. S.; KHOURI, S.; KRAEGER, E. W. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. **Diabetes**, v. 40, n. 2, p. 280-289, 1991.

SUZAWA, M.; TAKADA, I.; YANAGISAWA, J.; OHTAKE, F.; OGAWA, S.; YAMAUCHI, T.; KADOWAKU, T.; TAKEUCHI, Y.; SHIBUYA, H.; GOTOH, Y.; MATSUMOTO, K.; KATO, S. Cytokines suppress adipogenesis and PPAR- $\gamma$  function through the TAK1/TAB1/NIK cascade. **Nat. Cell Biol.**, v. 5, p. 224-230, 2003.

TAKAHASHI, N.; KAWADA, T. Physiological and pharmacological function of PPARs. **Nihon Yakurigaku Zasshi**, v. 117, n. 5, p. 319-327, 2001.

TEBBEY, P. W.; MCGOWAN, K. M.; STEPHENS, J. M.; BUTTKET, T. M.; PEKALA, P. H. Arachidonic acid down-regulates the insulin-dependent glucose transporter gene (GLUT4) in 3T3-L1 adipocytes by inhibiting transcription and enhancing mRNA Turnover. **J. Biol. Chem.**, v. 269, p. 639-644, 1994.

TEMES, E.; MARTÍN-PUIG, S.; ARAGONÉS, J.; JONES, D. R.; OLMOS, G.; MÉRIDA, I.; LANDÁZURI, M. O. Role of diacylglycerol induced by hypoxia in the regulation of HIF-1 $\alpha$  activity. **Biochem. and Biophys. Res. Commun.**, v. 315, p. 44-50, 2004.

THORENS, B.; CHARRON, M. J.; LODISH, H. F. Molecular physiology of glucose transporters. **Diabetes Care**, v. 13, p. 209-218, 1990.

TOBIN, K. A. R.; STEINEGER, H. H.; ALBERTI, S.; SPYDEVOLD, O.; AUWERX, J.; GUSTAFSSON, J.-A.; NEBB, H. I. Cross-talk between fatty acid and cholesterol metabolism mediated by liver X receptor - $\alpha$ . **Mol. Endocrinol.**, v. 14, n. 5, p. 741-752, 2000.

VETTOR, R.; FABRIS, R.; SERRA, R.; LOMBARDI, A. M.; TONELLO, C.; GRANZOTTO, M.; MARZOTO, M. O.; CARRUBA, M. O.; RICQUIER, D.; FEDERSPIL, G.; NISOLI, E. Changes in FAT/CD36, UCP2, UCP3 and GLUT4 gene expression during lipid infusion in rat skeletal and heart muscle. **Int. J. Obes. Metab. Disord.**, v. 26, n. 6, p. 838-847, 2002.

WHITNEY, K. D.; WATSON, M. A.; GOODWIN, B.; GALARDI, C. M.; MAGLICH, J. M.; WILSON, J. G.; WILLSON, T. M.; COLLINS, J. L.; KLIEWER, S. A. Liver X receptor (LXR) regulation of the LXR $\alpha$  in human macrophages. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 43509-43515, 2001.

WÓJCICKA, G.; JAMROZ-WISNIEWSKA, A.; HOROSZEWICZ, K.; BELTOWSKI, J. Liver receptors (LXRs). Part I: Structure, function, regulation of activity, and role in lipid metabolism. **Postepy. Hig. Med. Dosw.**, v. 61, p. 736-759, 2007.

WONG, M. L.; MEDRANO, J. F. Real-time PCR for mRNA quantitation. **BioTechniques**, v. 39, n. 1, p. 1-11, 2005.

WORGALL T. S.; STURLEY, S. L.; SEO, T.; OSBORNE, T. F.; DECKELBAUM, R. J. Polyunsaturated fatty acids decrease expression of promoters with sterol regulatory elements by decreasing levels of mature sterol regulatory element-binding protein. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 40, p. 25537-25540, 1998.

XU, J.; NAKAMURA, M. T.; CHO, H. P.; CLARKE, S. D. Sterol regulatory element binding protein-1 expression is suppressed by dietary polyunsaturated fatty acids. A mechanism for the coordinate suppression of lipogenic genes by polyunsaturated fats. **J. Biol. Chem.**, v. 274, n. 33, p. 23577-23583, 1999.

YOKOYAMA, C.; WANG, X.; BRIGGS, M. R.; ADMON, A.; WU, J.; HUA, X.; GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. **Cell**, v. 75, n. 1, p. 187-197, 1993.

YONEMITSU, S.; NISHIMURA, H.; SHINTANI, M.; INOUE, R.; YAMAMOTO, Y.; MASUZAKI, H.; OGAWA, Y.; HOSODA, K.; INOUE, G.; HAYASHI, T.; NAKAO, K. Troglitazone induces GLUT4 translocation in L6 myotubes. **Diabetes**, v. 50, p. 1093-1101, 2001.

YOSHIKAWA, T.; SHIMANO, H.; YAHAGI, N.; IDE, T.; AMEMIYA-KUDO, M.; MATSUZAKA, T.; NAKAKUKU, N.; TOMITA, S.; OKAZAKI, H.; TAMURA, Y.; LIZUKA, Y.; OHASHI, K.; TAKAHASHI, A.; SONE, H.; OSUGA, J-I.; GOTODA, T.; ISHIBASHI, S.; YAMADA, N. Polyunsaturated fatty acids suppress sterol regulatory element-binding protein 1c promoter activity by inhibition of liver X receptor (LXR) binding to LXR response elements. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n. 3, p. 1705-1711, 2002.

YU, C.; CHEN, Y.; CLINE, G. W.; ZHANG, D.; ZONG, H.; WANG, Y.; BERGERON, R.; KIM, J. K.; CUSHMAN, S. W.; COONEY, G. J.; ATCHESON, B.; WHITE, M. F.; KRAEGEN, E. W.; SHULMAN, G. I. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated Phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n. 52, p. 50230-50236, 2002.

ZELZER, E.; LEVY, Y.; KAHANA, C.; SHILO, B-Z.; RUBINSTEIN, M.; COHEN, B. Insulin induces transcription of target genes through the hypoxia-inducible factor HIF-1 $\alpha$ /ARNT. **EMBO J.**, v. 17, n. 17, p. 5085-5094, 1998.

ZHANG L.; KEUNG W.; SAMOKHVALOV V.; WANG W.; LOPASCHUK G. D. Role of fatty acid uptake and fatty acid beta-oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1801, p. 1-22, 2010.

ZHONG, H.; SUYANG, H.; ERDJUMENT-BROMAGE, H.; TEMPST, P.; GHOSH, S. The transcriptional activity of NF-kappaB is regulated by the IkappaB-associated PKAc subunit through a cyclic AMP-independent mechanism. **Cell**, v. 89, n. 3, p. 413-424, 1997.

ZHOU, X. R.; SUN, C. H.; ZHAO, D. Dietary conjugated linoleic acid increases PPAR gamma gene expression in adipose tissue of obese rat, and improves insulin resistance. **Growth Horm. IGF Res.**, v. 18, n. 5, p. 361-368, 2008.

ZORZANO, A.; PALACIN, M.; GUMÀ, A. Mechanisms regulating GLUT4 glucose transporter expression and glucose transport in skeletal muscle. **Acta. Physiol. Scand.**, v. 183, p. 43-58, 2005.