MARIA LUIZA ESTIMO MICHALANI

A albumina glicada modula a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 em célula adiposa de maneira hormética com potencial participação da via do NFκB

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

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Ubiratan Fabres Machado

Versão original.

São Paulo
2018

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Michalani, Maria Luiza Estimo

A albumina glicada modula a expressão de Slc2a4/GLUT4 em célula adiposa de maneira hormética com potencial participação da via do NFkB / Maria Luiza Estimo Michalani; orientador Ubiratan Fabres Machado . -- São Paulo, 2018.

61 p.

Dissertação (Mestrado)) -- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Resistência à insulina. 2. Produtos finais de glicação avançada. 3. GLUT4. 4. NFkB. 5. Inflamação. I. , Ubiratan Fabres Machado, orientador. II. Título.

RESUMO

MICHALANI, M. L. E. **A albumina glicada modula a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 em célula adiposa de maneira hormética com potencial participação da via do NFκB.** 2018. 61 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Um dos principais fatores patogênicos do quadro de resistência à insulina é a deficiência na expressão de *Slc2a4*/GLUT4 que, ao longo prazo, causa perda da homeostasia glicêmica. Além disso, a hiperglicemia constante leva a uma glicotoxicidade que também contribui para a patogênese desse quadro. O aumento da glicose circulante leva à formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) que, ao interagem com seu receptor RAGE, desencadeiam processos inflamatórios e estresse oxidativo e de retículo na célula, culminando na ativação da via do NFκB, fator transcricional conhecido por ser repressor da expressão do gene *Slc2a4*. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo visou investigar os efeitos dos AGEs na expressão de *Slc2a4*/GLUT4 e se esse efeito é mediado pela ativação da via do NFκB. Para isso, utilizamos adipócitos da linhagem 3T3-L1 tratados com albumina sérica bovina sem modificações ou conjugada com glicolaldeído e verificamos a expressão dos genes *Slc2a4*, *Nfkb1* e *Rela*, a abundância das proteínas GLUT4, p65 e p50, o grau de fosforilação das proteínas IKK alfa e IKK beta e a atividade de ligação da subunidade p65 no promotor do gene *Slc2a4*. Os resultados indicaram que a albumina glicada é capaz de modular a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 de maneira hormética, isto é, em concentração baixa (0,4 mg/mL) e tempo curto (24 horas), houve um aumento na expressão do gene e da proteína, porém, há uma redução da expressão do gene e da proteína quando em concentração alta (5,4 mg/mL) e tempo prolongado (72 horas). Além disso, a albumina glicada induz atividade pró-inflamatória no adipócito e aumento da quantidade de p65 e p50 no núcleo em concentração alta e tempo prolongado. No entanto, a ativação da via do NFκB não se dá pela via canônica, pois não foi observado ativação de IKK. Por fim, apesar de ser um dado preliminar, a albumina glicada induz aumento de ligação do NFκB na região promotora do gene *Slc2a4*. Em suma, o presente estudo demonstra que os AGEs participam não só da gênese das complicações degenerativas presentes no diabetes mellitus, como também, contribui ativamente para a perda da homeostasia glicêmica.

Palavras-chave: Resistência à insulina. Produtos finais de glicação avançada. GLUT4. NFκB. Inflamação.

ABSTRACT

MICHALANI, M. L. E. **Glycated albumin modulates the expression of *Slc2a4*/GLUT4 in adipose cells in a hormetic manner with potential participation of the NFKB pathway.** 2018. 61 f. Dissertation (Master thesis in Human Physiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

One of the main pathogenic factors of the insulin resistance is the deficiency in the expression of *Slc2a4*/GLUT4, which in the long term causes impaired glucose homeostasis. In addition, constant hyperglycemia leads to a glycototoxicity that also contributes to the pathogenesis of this condition. Increased circulating glucose leads to the formation of advanced glycated end products (AGEs) which, when interacting with RAGE receptor, trigger inflammatory processes and oxidative and reticulum stress in the cell, culminating in the activation of the NFKB pathway. This transcriptional factor is a known repressor of the *Slc2a4* gene. In this sense, the objective of the present study was to investigate the effects of AGEs on the expression of *Slc2a4*/GLUT4 and whether this effect is mediated by the activation of the NFKB pathway. For this, we used 3T3-L1 adipocytes treated with bovine serum albumin without modification or conjugated with glycolaldehyde and verified the expression of the genes *Slc2a4*, *Nfkb1* and *Rela*, abundance of GLUT4, p65 and p50 proteins, the degree of phosphorylation of IKK alpha and IKK beta proteins and p65 subunit binding activity in the *Slc2a4* gene promoter. The results indicated that glycated albumin is able to modulate the expression of *Slc2a4*/GLUT4 in a hormetic manner, i.e. at low concentration (0.4 mg/mL) and short time (24 hours), there was an increase in gene expression and protein. However, there is a reduction of the gene and the protein expression when in high concentration (5.4 mg/mL) and prolonged time (72 hours). In addition, glycated albumin induces proinflammatory activity in the adipocyte and increases the amount of p65 and p50 in the nucleus in high concentration and prolonged time. Nonetheless, the activation of the NFKB pathway does not occur through canonical pathway, since no IKK activation was observed. Finally, despite being a preliminary finding, glycated albumin induces increased NFKB binding in the promoter region of the *Slc2a4* gene. In summary, the present study demonstrates that AGEs participate not only in the genesis of the degenerative complications present in diabetes mellitus, but also contributes actively to the loss of glycemic homeostasis.

Key words: Insulin resistance. Advanced glycated end products. GLUT4. NFKB. Inflammation.

INTRODUÇÃO

A glicose é o principal carboidrato usado como fonte energética por todas as células do organismo, principalmente pelo cérebro, que a utiliza necessariamente. Outros tecidos têm a capacidade de utilizar diferentes substratos, como ácidos graxos, para produção de energia (JELLINGER, 2007). Os níveis de glicose sanguínea devem ser mantidos a níveis estreitos, entre cerca de 70 e 140 mg/dL, uma vez que uma hipoglicemia pode levar a convulsões, perda da consciência e, em casos severos, a morte. Por outro lado, uma hiperglicemia prolongada, como ocorre no diabetes mellitus (DM), pode levar a inúmeras complicações degenerativas como retinopatia, nefropatia e neuropatia (SHEPHERD; KAHN, 1999). Desse modo, garantir a promoção da homeostasia da glicose, ou seja, manter os níveis de glicemia adequados, é essencial ao organismo.

No estado pós-absortivo, a homeostasia glicêmica é um equilíbrio entre a captação periférica de glicose e a sua produção endógena. No jejum, os níveis de glicose são mantidos principalmente pela produção hepática e renal de glicose *de novo*, através do processo bioquímico chamado gliconeogênese e pela degradação do glicogênio hepático, processo bioquímico denominado glicogenólise. No período pós-prandial, quando há uma elevação nos níveis de glicose sanguínea devido a sua absorção intestinal, as células beta pancreáticas são estimuladas a secretar a insulina, hormônio que promove, principalmente: a) a inibição da gliconeogênese e da glicogenólise; b) o aumento da captação periférica de glicose e do uso desse carboidrato pelos tecidos adiposo e muscular e c) o aumento do anabolismo geral, estimulando a produção de glicogênio hepático e muscular, a produção de triacilgliceróis, principalmente no tecido adiposo branco, e síntese de proteínas (SHEPHERD; KAHN, 1999; JELLINGER, 2007).

Uma vez que a membrana plasmática é hidrofóbica, por ser composta por uma bicamada lipídica, ela é impermeável à glicose, uma molécula polar, e, portanto, é necessário que haja proteínas carreadoras que possibilitem o transporte de glicose do meio extracelular para o meio intracelular (MACHADO, 1998; SHEPHERD; KAHN, 1999). Existem duas famílias principais de proteínas carreadoras: as proteínas transportadoras de glicose acopladas ao sódio (SGLTs) e as proteínas transportadoras de glicose por difusão facilitada (GLUTs). Os SGLTs são encontrados em abundância na borda em escova dos enterócitos e das células tubulares renais e transportam a glicose contra seu gradiente de concentração, mas a favor do gradiente eletroquímico do sódio. Já os GLUTs, encontrados na superfície de todas as células, realizam o transporte de glicose a favor do seu gradiente de concentração (MACHADO, 1998). O quadro

abaixo destaca as principais isoformas de cada família e as suas características distintas (MACHADO, 1998; SHEPHERD; KAHN, 1999; MUECKLER; THORENS, 2013).

Quadro 1 – Principais isoformas de GLUTs e SGLTs.

Transportador	Gene codificante	Peso Molecular (kDa)	Km (mM)	Localização principal	Função principal
GLUT1	<i>SLC2A1</i>	~54	1-5	Ubíquo	Transporte basal de glicose
GLUT2	<i>SLC2A2</i>	~57	6-12	Rim, fígado, intestino delgado, célula beta pancreática	Sensor de glicose no pâncreas, transporte de alta capacidade
GLUT3	<i>SLC2A3</i>	~53	1-2	Cérebro, placenta, testículos	Principal transportador em neurônios
GLUT4	<i>SLC2A4</i>	~55	5-10	Músculo esquelético e cardíaco, tecido adiposo marrom e branco	Transporte estimulado pela insulina
GLUT5	<i>SLC2A5</i>	55	-	Intestino delgado e testículo	Transporte de frutose
SGLT1	<i>SLC5A1</i>	~73	0,8	Intestino delgado, rim, coração	Absorção de glicose no duodeno e jejuno e reabsorção de glicose na porção S3 do túbulo proximal renal
SGLT2	<i>SLC5A2</i>	~73	1,6	Rim	Reabsorção de glicose na porção S1 do túbulo proximal renal

Por ser insulino-sensível, o GLUT4, codificado pelo gene *SLC2A4* e expresso principalmente nos tecidos adiposo e muscular, é considerado um regulador-chave da homeostasia glicêmica, uma vez que sua função principal é a de captar glicose do sangue no

período pós-prandial, diminuindo assim os valores de glicemia (HUANG; CZECH, 2007; CORRÊA-GIANNELLA; MACHADO, 2013).

O GLUT4, por meio da ação da insulina, passa por um processo de translocação para a membrana plasmática, como demonstrado na figura 1. Resumidamente, a via se inicia com a insulina ligando-se ao seu receptor tirosina cinase, ativando-o. Com isso, ocorre a fosforilação em tirosina do substrato do receptor de insulina (IRS1) que ativa a fosfoinositol-3-cinase (PI3K). Essa enzima catalisa a conversão do fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP2) em fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), que ativa a enzima proteína cinase dependente de 3-fosfoinositol 1 (PDK1). A PDK1 fosforila a proteína cinase B (AKT) no resíduo treonina 308 (T308). Ao mesmo tempo, a ativação do receptor de insulina estimula a via do complexo da proteína cinase serina/treonina mTOR2 (mTORC2) que também fosforila a AKT, porém, no resíduo serina 473 (S473). Quando fosforilada concomitantemente pela PDK1 e pela mTORC2, a AKT ativa-se e, por meio de reações subsequentes, promove a translocação das vesículas que contêm o GLUT4 para a membrana plasmática da célula, permitindo assim a passagem da glicose do meio extracelular para o meio intracelular (HUANG; CZECH, 2007).

Figura 1 – Via simplificada da ação da insulina culminando na translocação do GLUT4.

A resistência à insulina é caracterizada como a habilidade diminuída de uma dada concentração desse hormônio em exercer seu efeito biológico, o que acarreta numa menor

responsividade dos tecidos-alvo à níveis normais de insulina circulante (SESTI, 2006). Isto implica em menor *clearance* da glicose circulante pelos tecidos adiposo e muscular e em uma menor inibição da gliconeogênese hepática, levado assim à perda da homeostasia glicêmica (TOMÁS et al., 2002; SAMUEL; SHULMAN, 2016). Defeitos na maquinaria de translocação das vesículas e/ou menor conteúdo de GLUT4 nessas vesículas, bem como uma expressão reduzida do gene *Slc2a4*, são fatores relacionados à patogênese desse quadro (DOHM et al., 1991; ZIERATH et al., 1996; GARVEY et al., 1998). Além disso, estados inflamatórios crônicos de baixo grau, com a presença de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina 6 (IL-6), podem ter papel patogênico na resistência à insulina, uma vez que processos inflamatórios levam a defeitos na via de sinalização desse hormônio (KERN et al., 2001; PICKUP, 2004). A glicotoxicidade causada por uma constante hiperglicemia é um fator que pode desencadear algum desses efeitos relacionados à patogênese da resistência insulínica (ROSSETI et al., 1987).

Dessa forma, o aumento da glicose circulante e/ou intracelular resulta em uma acelerada formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) (NOWOTHY et al., 2015). Os AGEs podem comprometer a homeostasia celular em alguns tipos específicos de células, contribuindo para o desenvolvimento de complicações crônicas do diabetes mellitus. Entretanto, pouco se sabe sobre o papel dos AGEs em tecidos adiposo e muscular, onde poderiam comprometer a captação de glicose, contribuindo para a piora da homeostasia glicêmica.

Os AGEs endógenos são formados pela reação de Maillard ou reação de *browning* como ilustrado na figura 2, que consiste em uma ligação covalente e não-enzimática entre o grupo carbonil de açúcares redutores e o grupo amina de proteínas ou fosfolípidos, gerando as bases de Schiff, em uma reação reversível. Essas bases, por sua vez, formam os produtos de Amadori, novamente numa reação reversível. Como são instáveis e altamente reativos, os produtos de Amadori sofrem rearranjos intra e intermoleculares, irreversíveis, dando origem aos AGEs (O'BRIEN; MORRISSEY; AMES, 1989). Além dessa via principal, intermediários ou produtos derivados da oxidação da glicose, da peroxidação de lipídes ou da rota dos polióis também podem formar compostos carbonil reativos como o glioxal e o metilglioxal que, ao interagirem, dão origem a inúmeros produtos de glicação avançada (NOWOTHY et al., 2015). Além da sua formação endógena, os AGEs podem ser obtidos de maneira exógena, através do tabaco e da ingestão de alimentos submetidos a cocção em altas temperaturas e longos períodos (CERAMI et al., 1997; URIBARRI et al., 2010).

Figura 2 – Produção endógena dos AGEs pela reação de Maillard e dos intermédios da oxidação da glicose e peroxidação lipídica. Imagem retirada de BOYER et al., 2015.

A albumina é uma proteína com peso molecular de ~67 kDa produzida no fígado, que representa de 50 a 60% do total de proteínas no plasma de indivíduos saudáveis (EVANS, 2002). Sendo tão abundante, essa proteína torna-se facilmente alvo da glicação em quadros de hiperglicemia, representando cerca de 80% do total de proteínas glicadas na circulação (COHEN, 2003).

Apesar do padrão-ouro de medida de controle glicêmico ser a hemoglobina glicada (HbA1c) seu uso possui limitações e, portanto, outros parâmetros para controle glicêmico vêm sendo estudados, entre eles, a albumina glicada (KIM; LEE, 2012). Isso porque a medição de hemoglobina glicada apresenta algumas limitações, dentre elas, destaca-se a sua longa meia-vida de três meses e a não existência de um ponto de corte bem definido para diferentes etnias, enquanto que a meia-vida da albumina é de cerca de duas a três semanas e não existem diferenças de concentração de albumina nas diferentes etnias. Além do mais, a medida de albumina glicada não é afetada por hemoglobinopatias nem pelo sexo do indivíduo (KIM; LEE, 2012; ALSSEMA et al., 2014). Também é importante destacar que a albumina glicada já foi descrita como um indicador de complicações micro e macrovasculares associadas ao diabetes mellitus (SELVIN et al., 2011; NATHAN et al., 2014) e vem sendo investigada como um novo critério para o diagnóstico de diabetes mellitus (WU et al., 2016). Sendo assim, a avaliação da albumina glicada é importante não só para verificação do controle glicêmico, mas também para

ser utilizada como um biomarcador no diagnóstico de DM e parâmetro de acompanhamento no desenvolvimento e evolução de possíveis complicações associadas ao DM.

O mecanismo de ação dos AGEs ocorre pela sua ligação com receptores localizados na membrana plasmática, que ativam vias de sinalização intracelular. O receptor para produtos de glicação avançada (RAGE) é o receptor mais estudado, porém, existem outros receptores já identificados, como os do complexo AGE-R e membros da família dos *scavengers* (SR). A expressão desses receptores é determinada pela condição metabólica do organismo e também depende do tipo de célula/tecido o qual se encontram. (OTT et al., 2014).

O RAGE pertence à superfamília das imunoglobulinas e tem peso molecular de cerca de 43 kDa. Quando os AGEs se ligam a esse receptor, ocorre a ativação de vias inflamatórias e de estresse oxidativo e de retículo endoplasmático, que concorrem para ativação da via do fator nuclear kappa-B (NFKB) (SINGH, 2011; OTT et al., 2014). Os receptores do complexo AGE-R são formados por 3 isoformas, AGE-R1, AGE-R2, AGE-R3, com pesos moleculares de ~50, ~80 e ~32 kDa, respectivamente. A ligação dos AGEs ao receptor AGE-R1 desencadeiam sinais intracelulares que bloqueiam a ativação de vias de estresse oxidativo. Já os complexos AGE-R2 e AGE-R3 possuem papéis em alguns processos celulares como tráfego de vesículas intracelulares, migração e adesão celular, mas os processos envolvendo a ligação dos AGEs é um fenômeno que carece de estudos para serem melhor elucidados. O terceiro tipo de receptor o qual os AGEs podem se ligar são os da família dos *scavengers*, que possuem duas classes principais, o receptor SR classe A (SR-A) e o receptor SR classe B (SR-B). A ativação desses tipos de receptores leva à degradação dos AGEs (OTT et al., 2014).

Como descrito anteriormente, a ligação dos AGEs com RAGE leva à ativação da via do NFKB (SINGH, 2011; OTT et al., 2014). O NFKB é um fator transcricional composto por associação das proteínas que contêm o domínio de homologia Rel (RHD) na porção N-terminal, onde se localizam as sequências necessárias para a dimerização do complexo, sua translocação para o núcleo e a ligação do fator ao DNA (KARIN, 1999). Existem cinco proteínas descritas pertencentes a essa família, são eles: p50 (NFKB1), p52, p65 (RELA), RelB e c-Rel, que se agrupam formando hetero ou homodímeros, sendo o heterodímero p65/p50 o tipo mais abundante encontrado nas células (OECKINGHAUS; GHOSH, 2009). Além do domínio RHD, as proteínas p65, RelB e c-Rel apresentam um elemento em sua estrutura chamado de domínio de transativação (TAD), enquanto que as proteínas p50 e p52 não possuem esse componente. Dessa forma, hetero ou homodímeros das proteínas p50 e p52 reprimem a transcrição de genes dependentes de NFKB, pois ou impedem que os complexos formados pelas outras proteínas se

liguem ao DNA ou recrutam desacetilases à região promotora dos genes-alvo (ZHONG et al., 2002).

Existem três maneiras de ativação da via do NFkB: a via canônica, a via não-canônica e a via atípica independente de IKK, como mostra a figura 3. Cada via possui características específicas, no entanto, o ponto em comum é o resultado final, ou seja, a promoção da translocação do NFkB para o núcleo, local onde este fator exerce sua função.

A via canônica inicia-se com a ligação de ativadores a seus receptores que desencadeiam sinais intracelulares capazes de fosforilar e ativar o complexo das cinases da proteína inibidora do kappa-B (IKK). Esse complexo é formado por duas subunidades catalíticas (IKK alfa e IKK beta) e uma subunidade regulatória (IKK gama, também conhecida como modulador essencial NF-kappa-B – NEMO) (KARIN, 1999). A ativação do complexo IKK ocorre por fosforilação das subunidades catalíticas, tornando-o hábil a fosforilar a proteína inibidora do kappa-B (IκB). Essa proteína, em sua forma nativa, está associada ao dímero de NFkB no citoplasma, impedindo a translocação desse fator para o núcleo. Quando fosforilada, a IκB recebe um sinal de ubiquitinação, levando-a a degradação proteolítica, liberando os dímeros de NFkB, compostos geralmente pelas subunidades p50 e p65, para exercerem suas ações no núcleo da célula (BOWIE; O'NEILL, 2000).

Outra via de ativação, a via não-canônica, também se inicia com a ligação de ativadores com seus receptores, porém, os sinais intracelulares gerados ativam a cinase indutora de NFkB (NIK) que, por sua vez, fosforila o complexo IKK formado por homodímeros de IKK alfa, ativando-o. Esse complexo fosforila a subunidade p100 do NFkB, induzindo seu processo proteolítico, transformando-o na subunidade p52. Esse processamento permite, enfim, a translocação para o núcleo dos dímeros de NFkB compostos pela subunidade p52 que, geralmente, é encontrada complexada à subunidade RelB (BONIZZI et al., 2004).

A ativação dessa via também se dá pela via atípica independente de IKK. Uma das maneiras de estimular essa via é por estresse oxidativo induzido pelo peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que resulta na fosforilação de IκB no resíduo tirosina 42 (Tyr42). Dessa forma, o complexo NFkB, formado pelas subunidades p50 e p65, é liberado possibilitando sua translocação para o núcleo (LI; STARK, 2002; WANG et al., 2002; PERKINS; GILMORE, 2006; GLOIRE; PIETTE, 2009; CULLEN et al., 2015).

Independente da via ativada, o NFkB, uma vez no núcleo, é capaz de estimular a transcrição gênica de fatores inflamatórios (LIBERMANN; BALTIMORE, 1990) e do RAGE (LI; SCHMIDT, 1997), assim como do próprio gene *Nfkb1*, responsável por codificar a proteína p50 (TEN et al., 1992). É importante destacar que na região promotora do gene *Rela*,

responsável por transcrever a proteína p65, não se encontram sítios de ligação do NFkB (UEBERLA et al., 1993). Assim, apesar do NFkB autorregular a transcrição de p50, não se observa isso com a proteína p65. Além de promover a transcrição de diversos genes, esse fator também tem a capacidade de agir inibindo a transcrição de genes como do gene *Slc2a4* (FURUYA et al., 2013).

Figura 3 – Representação simplificada das três formas de ativação da via do NFkB.

Dado que os AGEs podem ativar a via do NFkB ao se ligarem ao receptor RAGE e que o NFkB é um conhecido repressor da transcrição do gene *Slc2a4*, a albumina glicada pode ser capaz de modular a expressão de *Slc2a4*/GLUT4, contribuindo para eventos iniciais da perda da homeostasia glicêmica que levam ao desenvolvimento do quadro de resistência à insulina.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, podemos concluir que a albumina glicada, em células 3T3-L1, modula a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 de acordo com a concentração e/ou tempo de tratamento, caracterizando um efeito hormético. Em concentração baixa e tempo curto, ocorre um aumento na expressão de *Slc2a4*/GLUT4; já em concentração alta e tempo longo, ocorre o oposto, ou seja, redução na expressão do gene e da proteína.

Além disso, a albumina glicada induz atividade pró-inflamatória no adipócito, efeito esse demonstrado por um aumento da expressão de *Nfkb1* e *Rela*, genes responsáveis por codificar as subunidades p50 e p65, respectivamente, do complexo NFkB. Também foi observado um aumento da quantidade de p50 e p65 no núcleo das células, quando essas foram cultivadas em concentração alta de albumina e por período de tempo longo, indicando a possível regulação do gene *Slc2a4* pelo NFkB.

Essa ativação da via do NFkB não ocorre pela via canônica, pois não foi observada ativação de IKK.

Por fim, a albumina glicada em concentração alta promove um aumento na ligação do NFkB na região promotora do gene *Slc2a4*, embora esse dado ainda seja preliminar.

Em suma, os resultados obtidos em adipócitos evidenciam que a albumina glicada estimula a atividade pró-inflamatória do NFkB, o que leva a redução da expressão de *Slc2a4*/GLUT4. Portanto, o presente estudo revela que os AGEs não só participam da gênese de complicações degenerativas do diabetes, mas também contribuem para perda da homeostasia glicêmica.

REFERÊNCIAS*

ALSSEMA, M.; BOERS, H.M.; CERIELLO, A.; KILPATRICK, E.S.; MELA, D.J.; PRIEBE, M.G.; SCHRAUWEN, P.; WOLFFENBUTTEL, B.H.; PFEIFFER, A.F. Diet and glycaemia: the markers and their meaning. A report of the Unilever Nutrition Workshop. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. 02, p. 239-248, 2014.

ANDREWS, N.C.; FALLER, D.V. A rapid micropreparation technique for extraction of DNA binding proteins from limiting numbers of mammalian cells. **Nucleic Acids Research**, v. 19, n. 09, p. 2499, 1991.

BONIZZI, G.; BEBIEN, M.; OTERO, D.C.; JOHNSON-VROOM, K.E.; CAO, Y.; VU, D.; JEGGA, A.G.; ARONOW, B.J.; GHOSH, G.; RICKERT, R.C.; KARIN, M. Activation of IKK α target genes depends on recognition of specific κ B binding sites by RelB: p52 dimers. **The EMBO Journal**, v. 23, n. 21, p. 4202-4210, 2004.

BOWIE, A.; O'NEILL, L.A.J. Oxidative stress and nuclear factor- κ B activation. **Biochemical Pharmacology**, v. 59, n. 01, p. 13-23, 2000.

BOYER, D.; VIDOT, J.B.; DUBOURG, A.G.; RONDEAU, P.; ESSOP, M.F.; BOURDON E. Oxidative Stress and Adipocyte Biology: Focus on the Role of AGEs. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2015, p. 1-9, 2015.

BUSHER, J.T. Serum Albumin and Globulin. In: WALKER, H.K.; HALL, W.D.; HURST, J. W, editors. **Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations**. 3. ed. Boston: Butterworths. Cap. 101, p. 497- 499, 1990.

CATRYSSSE, L.; VAN LOO, G. Inflammation and the Metabolic Syndrome: The Tissue-Specific Functions of NF- κ B. **Trends in Cell Biology**, v. 27, n. 06, p. 417-429, 2017.

CERAMI, C.; FOUNDS, H.; NICHOLL, I.; MITSUHASHI, T.; GIORDANO, D.; VANPATTEN, S.; LEE, A.; AL-ABED, Y.; VLASSARA, H.; BUCALA, R.; CERAMI, A. Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 25, p. 13915-13920, 1997.

COHEN, M.P. Intervention strategies to prevent pathogenetic effects of glycated albumin. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 419, n. 01, p. 25-30, 2003.

CORRÊA-GIANNELLA, M.L.; MACHADO, U.F. *SLC2A4* gene: a promising target for pharmacogenomics of insulin resistance. **Pharmacogenomics**, v. 14, n. 08, p. 847-850, 2013.

* De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

COSTAL, F.; OLIVEIRA, E.; RAPOSO, A.; MACHADO-LIMA, A.; PEIXOTO, E.; ROMA, L.; SANTOS, L.; LOPES FARIA, J.B.; CARPINELLI, A.R.; GIANNELLA-NETO, D.; PASSARELLI, M.; CORREA-GIANNELLA, M.L. Dual effect of advanced glycation end products in pancreatic islet apoptosis. **Diabetes/metabolism Research and Reviews**, v. 29, n. 04, p. 296-307, 2013.

CULLEN, S.; PONNAPPAN, S.; PONNAPPAN, U. Redox-Regulated Pathway of Tyrosine Phosphorylation Underlies NF- κ B Induction by an Atypical Pathway Independent of the 26S Proteasome. **Biomolecules**, v. 05, n. 01, p. 95-112, 2015.

DE SOUZA PINTO, R.; CASTILHO, G.; PAIM, B.A.; MACHADO-LIMA, A.; INADA, N.M.; NAKANDAKARE, E.R.; VERCESI, A.E.; PASSARELLI, M. Inhibition of Macrophage Oxidative Stress Prevents the Reduction of ABCA-1 Transporter Induced by Advanced Glycated Albumin. **Lipids**, v. 47, n. 05, p. 443-450, 2012.

DOHM, G.L.; ELTON, C.W.; FRIEDMAN, J.E.; PILCH, P.F.; PORIES, W.J.; ATKINSON SM, J.R.; CARO, J.F. Decreased expression of glucose transporters in muscle from insulin-resistant patients. **The American Journal of Physiology**, v. 260, n. 3, p. E459-63, 1991.

DOLHOFFER, R.; WIELAND, H. Glycosylation of serum albumin: Elevated glycosyl-albumin in diabetic patients. **Febs Letters**, v. 103, n. 02, p. 282-286, 1979.

EBERSBACH-SILVA, Patrícia et al. Palmitate-induced *Slc2a4*/GLUT4 downregulation in L6 muscle cells: evidence of inflammatory and endoplasmic reticulum stress involvement. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 1-8, 2018.

EVANS, T.W. Review article: albumin as a drug-biological effect of albumin unrelated to oncotic pressure. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 16, n. 05, p. 6-11, 2002.

FABRE, N.T.; THIEME, K.; SILVA, K.S.; CATANOZI, S.; CAVALEIRO, A.M.; PINTO, D.A.; OKAMOTO, M.M.; MORAIS, M.R.; FALQUETTO, B.; ZORN, T.M.; MACHADO, U.F.; PASSARELLI, M.; CORREA-GIANNELLA, M.L. Hormetic modulation of hepatic insulin sensitivity by advanced glycation end products. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 447, p. 116-124, 2017.

FARMER, S.R. Transcriptional control of adipocyte formation. **Cell Metabolism**, v. 04, n. 4, p. 263-273, 2006.

FURUYA, D.T.; NERI, E.A.; POLETTTO, A.C.; ANHÊ, G.F.; FREITAS, H.S.; CAMPELLO, R.S.; REBOUÇAS, N.A.; MACHADO, U.F. Identification of nuclear factor- κ B sites in the *Slc2a4* gene promoter. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 370, n. 1-2, p. 87-95, 2013.

GARFIN, D.E. One-dimensional gel electrophoresis. **Methods in Enzymology**, v. 182, p. 425-41, 1990.

GARVEY, W.T.; MAIANU, L.; ZHU, J.H.; BRECHTEL-HOOK, G.; WALLACE, P.; BARON, A.D. Evidence for defects in the trafficking and translocation of GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle as a cause of human insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 101, n. 11, p. 2377-2386, 1998.

GREEN, H.; KEHINDE, O. An established preadipose cell line and its differentiation in culture II. Factors affecting the adipose conversion. **Cell**, v. 05, n. 01, p. 19-27, 1975.

GREGOIRE, F.M.; SMAS, C.M.; SUL, H.S. Understanding Adipocyte Differentiation. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 03, p. 783-809, 1998.

GLOIRE, G.; PIETTE, J. Redox Regulation of Nuclear Post-Translational Modifications During NF- κ B Activation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 11, n. 09, p. 2209-2222, 2009.

HANSEN, B.C. The Metabolic Syndrome X. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 892, n. 01, p. 1-24, 1999.

HUANG, S.; CZECH, M.P. The GLUT4 Glucose Transporter. **Cell Metabolism**, v. 05, n. 04, p. 237-252, 2007.

JELLINGER, P.S. Metabolic consequences of hyperglycemia and insulin resistance. **Insulin**, v. 04, n. 01, p. 2-14, 2009.

KARIN, M. How NF- κ B is activated: the role of the I κ B kinase (IKK) complex. **Oncogene**, v. 18, n. 49, p. 6867-6874, 1999.

KIM, K.J.; LEE, B. The Roles of Glycated Albumin as Intermediate Glycation Index and Pathogenic Protein. **Diabetes & Metabolism Journal**, v. 36, n. 02, p. 98, 2012.

KERN, P.A.; RANGANATHAN, S.; LI, C.; WOOD, L.; RANGANATHAN, G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 280, n. 05, p.745-751, 2001.

KOGA, M.; MATSUMOTO, S.; SAITO, H.; KASAYAMA, S. Body Mass Index Negatively Influences Glycated Albumin, but not Glycated Hemoglobin, in Diabetic Patients. **Endocrine Journal**, v. 53, n. 03, p. 387-391, 2006.

KURI-HARUCH, W.; GREEN, H. Adipose conversion of 3T3 cells depends on a serum factor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 75, n. 12, p. 6107-6109, 1978.

LI, J.; SCHMIDT, A.M. Characterization and Functional Analysis of the Promoter of RAGE, the Receptor for Advanced Glycation End Products. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 26, p. 16498-16506, 1997.

LI, X; STARK, G.R. NF κ B-dependent signaling pathways. **Experimental Hematology**, v. 30, n. 04, p. 285-296, 2002.

LIBERMANN, T.A.; BALTIMORE, D. Activation of Interleukin-6 Gene Expression through the NF- κ B Transcription Factor. **Molecular and Cellular Biology**, v. 10, n. 05, p. 2327-2334, 1990.

LING, L.; CAO, Z.; GOEDDEL, D.V. NF- κ B-inducing kinase activates IKK- α by phosphorylation of Ser-176. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 07, p. 3792-3797, 1998.

MACHADO, U.F. Transportadores de glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 42, n. 06, p. 413-421, 1998.

MACHADO-LIMA, A.; IBORRA, R.T.; PINTO, R.S.; CASTILHO, G.; SARTORI, C.H.; OLIVEIRA, E.R.; OKUDA, L.S.; NAKANDAKARE, E.R.; GIANNELLA-NETO, D.; MACHADO, U.F.; CORREA-GIANNELLA, M.L.; TRALDI, P.; PORCU, S.; ROVERSO, M.; LAPOLLA, A.; PASSARELLI, M. In Type 2 Diabetes Mellitus Glycated Albumin Alters Macrophage Gene Expression Impairing ABCA1-Mediated Cholesterol Efflux. **Journal of Cellular Physiology**, v. 230, n. 06, p. 1250-1257, 2015.

MACHADO-LIMA, A.; IBORRA, R.T.; PINTO, R.S.; SARTORI, C.H.; OLIVEIRA, E.R.; NAKANDAKARE, E.R.; STEFANO, J.T.; GIANNELLA-NETO, D.; CORREA-GIANNELLA, M.L.; PASSARELLI, M. Advanced glycated albumin isolated from poorly controlled type 1 diabetes mellitus patients alters macrophage gene expression impairing ABCA1-mediated reverse cholesterol transport. **Diabetes/metabolism Research and Reviews**, v. 29, n. 1, p. 66-76, 2013.

MEHLEM, A.; HAGBERG C.E.; MUHL, L.; ERIKSSON, U.; FALKEVALL, A. Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. **Nature Protocols**, v. 08, n. 06, p. 1149-1154, 2013.

MIELE, C.; RIBOULET, A.; MAITAN, M.A.; ORIENTE, F.; ROMANO, C.; FORMISANO, P.; GIUDICELLI, J.; BEGUINOT, F.; VAN OBBERGHEN, E. Human Glycated Albumin Affects Glucose Metabolism in L6 Skeletal Muscle Cells by Impairing Insulin-induced Insulin Receptor Substrate (IRS) Signaling through a Protein Kinase C α -mediated Mechanism. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 48, p. 47376-47387, 2003.

MONDEN, M.; KOYAMA, H.; OTSUKA, Y.; MORIOKA, T.; MORI, K.; SHOJI, T.; MIMA, Y.; MOTOYAMA, K.; FUKUMOTO, S.; SHIOI, A.; EMOTO, M.; YAMAMOTO, Y.; YAMAMOTO, H.; NISHIZAWA, Y.; KURAJOH, M.; YAMAMOTO, T.; INABA, M. Receptor for Advanced Glycation End Products Regulates Adipocyte Hypertrophy and Insulin Sensitivity in Mice: Involvement of Toll-Like Receptor 2. **Diabetes**, v. 62, n. 02, p. 478-489, 2012.

MORAES, P.A.; YONAMINE, C.Y.; PINTO JUNIOR, D.C.; ESTEVES, J.V.; MACHADO, U.F.; MORI, R.C. Insulin acutely triggers transcription of *Slc2a4* gene: Participation of the AT-rich, E-box and NFkB-binding sites. **Life Sciences**, v. 114, n. 01, p. 36-44, 2014.

MUECKLER, M.; THORENS, B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 34, n. 2-3, p. 121-138, 2013.

NATHAN, D.M.; MCGEE, P.; STEFFES, M.W.; LACHIN, J.M.; DCCT/EDIC RESEARCH GROUP. Relationship of Glycated Albumin to Blood Glucose and HbA1c Values and to Retinopathy, Nephropathy, and Cardiovascular Outcomes in the DCCT/EDIC Study. **Diabetes**, v. 63, n. 01, p. 282-290, 2013.

NOWOTNY, K.; JUNG, T.; HÖHN, A.; WEBER, D.; GRUNE, T. Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus. **Biomolecules**, v. 05, n. 1, p. 194-222, 2015.

NTAMBI, J.M.; YOUNG-CHEUL, K. Adipocyte Differentiation and Gene Expression. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 12, p. 3122-3126, 2000.

O'BRIEN, J.; MORRISSEY, P.A.; AMES, J.M. Nutritional and toxicological aspects of the Maillard browning reaction in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 03, p. 211-248, 1989.

OECKINGHAUS, A.; GHOSH, S. The NF-κB Family of Transcription Factors and Its Regulation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 01, n. 4, p. 1-15, 2009.

OKUDA, L.S.; CASTILHO, G.; ROCCO, D.D.; NAKANDAKARE, E.R.; CATANOZI, S.; PASSARELLI, M. Advanced glycated albumin impairs HDL anti-inflammatory activity and primes macrophages for inflammatory response that reduces reverse cholesterol transport. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1821, n. 12, p. 1485-1492, 2012.

OTT, C.; JACOBS, K.; HAUCKE, E.; SANTOS, A.N.; GRUNE, T.; SIMM, A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. **Redox Biology**, v. 02, p. 411-429, 2014.

PERKINS, N D; GILMORE, T D. Good cop, bad cop: the different faces of NF-κB. **Cell Death and Differentiation**, v. 13, n. 05, p. 759-772, 2006.

PICKUP, J.C. Inflammation and Activated Innate Immunity in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, v. 27, n. 03, p.813-823, 2004.

PINTO-JUNIOR, D.C.; SILVA, K.S.; MICHALANI, M.L.; YONAMINE, C.Y.; ESTEVES, J.V.; FABRE, N.T.; THIEME, K.; CATANOZI, S.; OKAMOTO, M.M.; SERAPHIM, P.M.; CORRÊA-GIANNELLA, M.L.; PASSARELLI, M.; MACHADO, U.F. Advanced glycation end products-induced insulin resistance involves repression of skeletal muscle GLUT4 expression. **Scientific Reports**, v. 08, n. 01, p. 1-11, 2018.

POLETTTO, A.C.; FURUYA, D.T.; DAVID-SILVA, A.; EBERSBACH-SILVA, P.; SANTOS, C.L.; CORRÊA-GIANNELLA, M.L.; PASSARELLI, M.; MACHADO, U.F. Oleic and linoleic fatty acids downregulate *Slc2a4*/GLUT4 expression via NF κ B and SREBP1 in skeletal muscle cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 401, p. 65-72, 2015.

QUEIROZ, J.C.F.; ALONSO-VALE, M.I.; CURI, R.; LIMA, F.B. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 05, p. 582-594, 2009.

RAMÍREZ-ZACARÍAS, J.L.; CASTRO-MUÑOZLEDO, F.; KURI-HARCUCH, W. Quantitation of adipose conversion and triglycerides by staining intracytoplasmic lipids with Oil red O. **Histochemistry**, v. 06, n. 97, p. 493-497, 1992.

RISS T.L.; MORAVEC R.A.; NILES A.L., et al. Cell Viability Assays. In: SITTAMPALAM GS, COUSSENS NP, BRIMACOMBE K, et al., editors. **Assay Guidance Manual [Internet]**. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences. p. 357-387, 2004.

ROMERO-CALVO, I.; OCÓN, B.; MARTÍNEZ-MOYA, P.; SUÁREZ, M.D.; ZARZUELO, A.; MARTÍNEZ-AUGUSTIN, O.; DE MEDINA, F.S. Reversible Ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. **Analytical Biochemistry**, v. 401, n. 02, p. 318-320, 2010.

ROSSETTI, L.; SMITH, D.; SHULMAN, G.I.; PAPACHRISTOU, D.; DEFRONZO, R.A. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. **Journal of Clinical Investigation**, v. 79, n. 05, p. 1510-1515, 1987.

RUAN, H.; HACOEN, N.; GOLUB, T.R.; VAN PARIJS, L.; LODISH, H.F. Tumor Necrosis Factor-alpha Suppresses 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, n. 5, p.1319-1336, 2002.

SAMUEL, V.T.; SHULMAN, G.I. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. **Journal of Clinical Investigation**, v. 126, n. 01, p. 12-22, 2016.

SELVIN, E.; FRANCIS, L.M.; BALLANTYNE, C.M.; HOOGEVEEN, R.C.; CORESH, J.; BRANCATI, F.L.; STEFFES, M.W. Nontraditional Markers of Glycemia: Associations with microvascular conditions. **Diabetes Care**, v. 34, n. 04, p. 960-967, 2011.

SESTI, G. Pathophysiology of insulin resistance. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 20, n. 04, p. 665–679, 2006.

SHEPHERD, P.R.; KAHN, B.B. Glucose Transporters and Insulin Action — Implications for Insulin Resistance and Diabetes Mellitus. **New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 04, p. 248-257, 1999.

SILVA, J.L.; GIANNOCO, G.; FURUYA, D.T.; LIMA, G.A.; MORAES, P.A.; NACHEF, S.; BORDIN, S.; BRITTO, L.R.; NUNES, M.T.; MACHADO, U.F. NF- κ B, MEF2A, MEF2D and HIF1- α involvement on insulin- and contraction-induced regulation of GLUT4 gene expression in soleus muscle. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 240, n. 1-2, p. 82-93, 2005.

SINGH, R.; BARDEN, A.; MORI, T.; BEILIN, L. Advanced glycation end-products: a review. **Diabetologia**, v. 44, n. 02, p. 129-146, 2001.

TAKAHASHI, S.; UCHINO, H.; SHIMIZU, T.; KANAZAWA, A.; TAMURA, Y.; SAKAI, K.; WATADA, H.; HIROSE, T.; KAWAMORI, R.; TANAKA, Y. Comparison of Glycated Albumin (GA) and Glycated Hemoglobin (HbA1c) in Type 2 Diabetic Patients: Usefulness of GA for Evaluation of Short-term Changes in Glycemic Control. **Endocrine Journal**, v. 54, n. 01, p. 139-144, 2007.

TEN, R.M.; PAYA, C.V.; ISRAËL, N.; BAIL, O.L.; MATTEI, M.G.; VIRELIZIER, J.L.; KOURILSKY, P.; ISRAËL, A. The characterization of the promoter of the gene encoding the p50 subunit of NF- κ B indicates that it participates in its own regulation. **The EMBO Journal**, v. 11, n. 01, p. 195-203, 1992.

THACKER, J.S.; YEUNG, D.H.; STAINES, W.R.; MIELKE, J.G. Total protein or high-abundance protein: Which offers the best loading control for Western blotting? **Analytical Biochemistry**, v. 496, p. 76-78, 2016.

TIMMONS, T.M.; DUNBAR, B.S. Protein Blotting and Immunodetection. **Methods in Enzymology**, v. 182, p. 679-688, 1990.

TOMÁS, E.; LIN Y.S.; DAGHER Z.; SAHA A.; LUO Z.; IDO Y.; RUDERMAN N.B. Hyperglycemia and Insulin Resistance: Possible Mechanisms. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 967, n. 01, p. 43-51, 2006.

TOWBIN, H; STAEBELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 76, n. 09, p. 4350-4354, 1979.

UEBERLA, K.; LU, Y.; CHUNG, E.; HASELTINE, W.A. The NF-kappa B p65 promoter. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 06, n. 03, p. 227-30, 1993.

UNOKI, H.; BUJO, H.; YAMAGISHI, S.; TAKEUCHI, M.; IMAIZUMI, T.; SAITO, Y. Advanced glycation end products attenuate cellular insulin sensitivity by increasing the generation of intracellular reactive oxygen species in adipocytes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 76, n. 02, p. 236-244, 2007.

URIBARRI, J.; WOODRUFF, S.; GOODMAN, S.; CAI, W.; CHEN, X.; PYZIK, R.; YONG, A.; STRIKER, G.E.; VLASSARA, H. Advanced Glycation End Products in Foods and a Practical Guide to Their Reduction in the Diet. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 110, n. 06, p. 911-916, 2010.

WANG, T.; ZHANG, X.; LI, J.J. The role of NF- κ B in the regulation of cell stress responses. **International Immunopharmacology**, v. 02, n. 11, p. 1509-1520, 2002.

WILCOX, G. Insulin and insulin resistance. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 26, n. 02, p. 19-39, 2005.

WU, C.H.; HUANG, H.W.; HUANG, S.M.; LIN, J.A.; YEH, C.T.; YEN, G.C. AGE-induced interference of glucose uptake and transport as a possible cause of insulin resistance in adipocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7978-7984, 2011.

WU, W.C.; MA, W.Y.; WEI, J.N.; YU, T.Y.; LIN, M.S.; SHIH, S.R.; HUA, C.H.; LIAO, Y.J.; CHUANG, L.M.; LI, H.Y. Serum Glycated Albumin to Guide the Diagnosis of Diabetes Mellitus. **Plos One**, v. 11, n. 01, p. 1-14, 2016.

XIE, F.; XIAO, P.; CHEN, D.; XU, L.; ZHANG, B. MiRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs. **Plant Molecular Biology**, v. 80, n. 01, p. 75-84, 2012.

YOON, H.; LEE, Y.; KIM, K.J.; KIM, S.R.; KANG, E.S.; CHA, B.; LEE, H.C.; LEE, B. Glycated Albumin Levels in Patients with Type 2 Diabetes Increase Relative to HbA1c with Time. **Biomed Research International**, v. 2015, p. 1-8, 2015.

ZHONG, H.; MAY, M.J.; JIMI, E.; GHOSH, S. The phosphorylation status of nuclear NF- κ B determines its association with CBP/p300 or HDAC-1. **Molecular Cell**, v.09, n. 03, p. 625-636, 2002.

ZIERATH, J.R.; HE, L.; GUMÀ, A.; ODEGOARD WAHLSTRÖM, E.; KLIP, A.; WALLBERG-HENRIKSSON, H. Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. **Diabetologia**, v. 39, n. 10, p. 1180-1189, 1996.