

SILVANIA DA SILVA TEIXEIRA

**MECANISMOS ENVOLVIDOS NA AÇÃO NÃO GENÔMICA DO
HORMÔNIO TIREOIDIANO SOBRE A EXPRESSÃO E TRANSLOCAÇÃO
DA ISOFORMA 4 DO TRANSPORTADOR DE GLICOSE (GLUT4):
ESTUDO NO TECIDO MUSCULAR ESQUELÉTICO E ADIPOSEO**

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: Maria Tereza Nunes

São Paulo
2010

RESUMO

TEIXEIRA, S. S. **Mecanismos envolvidos na ação não genômica do hormônio tireoidiano sobre a expressão e translocação da isoforma 4 do transportador de glicose (GLUT4):** estudo no tecido muscular esquelético e adiposo. 2010. 106 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O hormônio tireoidiano (HT) participa do controle de funções essenciais do organismo. A maioria dos seus efeitos é mediada pela modulação da transcrição gênica e se manifesta em um período longo o suficiente para permitir a transcrição de genes específicos. Por outro lado, são crescentes na literatura as evidências de que o HT também promove efeitos que ocorrem em um curto espaço de tempo e que se manifestam mesmo na presença de inibidores da transcrição gênica. O GLUT4 é o principal transportador de glicose presente no músculo esquelético, no cardíaco e no tecido adiposo. O seu processo de translocação e inserção na membrana plasmática resulta da ativação de vias de sinalização que ocorre a partir da interação da insulina com seus receptores de membrana. No músculo esquelético e cardíaco, uma segunda via que aciona o mecanismo de translocação do GLUT4 envolve a ativação da AMPK, processo desencadeado pela contração muscular. O presente estudo teve como objetivo avaliar: (i) no modelo *in vivo* (ratos Wistar), se o T3 e o T4 provocam agudamente a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática; (ii) no modelo *in vitro* (células musculares L6 e adipócitos 3T3-L1), se o T3 e o T4 provocam o efeito descrito acima; e (iii) se esse efeito ocorre por ativação das vias de sinalização da insulina e/ou da contração muscular. Nossos estudos *in vivo* demonstram que a administração de T3 rapidamente aumentou o conteúdo de GLUT4 na fração correspondente à membrana plasmática no músculo esquelético e no tecido adiposo. No entanto, essa ação foi independente da ativação da PI3-K e da AMPK. Os estudos *in vitro*, mostraram que o T3 promove, rapidamente, um aumento na captação de glicose nas células L6 sem, contudo, alterar o conteúdo de GLUT4 presente na membrana. Esses resultados sugerem que essa ação do T3 ocorra devido a ativação do GLUT4 já presente na membrana ou devido a algum processo independente dessa proteína. Nossos resultados demonstram que ao lado das suas reconhecidas ações genômicas, o HT atua por mecanismos não genômicos regulando a translocação do GLUT4. Além disso, sugerem fortemente que o T3 participe, também por mecanismos não genômicos, do processo de ativação do GLUT4 já inserido na membrana.

Palavras-chave: Hormônio Tireoideano. Ações não Genômicas. GLUT4. Captação de Glicose.

ABSTRAT

TEIXEIRA, S.S **Mechanisms involved in the nongenomic action of thyroid hormone on the expression and translocation of the isoform of glucose transporter 4 (GLUT4):** a study in skeletal muscle and adipose tissue. 2010. 106 p. Ph. D. Thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

The thyroid hormone (TH) participates in the control of essential functions of the organism. Most of its effects are mediated by modulation of gene transcription and take place over a long enough period of time to allow the transcription of specific genes. On the other hand, evidence that TH also promotes the effects that occur in a short period of time and which manifest even in the presence of inhibitors of gene transcription have been increasingly found in literature. GLUT4 is the main transporter of glucose in skeletal muscle, the heart and adipose tissue. Its translocation and insertion in the plasma membrane result from the activation of signaling pathways triggered by the interaction of insulin with membrane receptors. In skeletal muscle and the heart, a second pathway that activates the mechanism of GLUT4 translocation involves the activation of AMPK, a process triggered by muscle contraction. This study aimed at evaluating: (i) in the *in vivo* model (Wistar rats), if T3 and T4 acutely cause translocation of GLUT4 to the plasma membrane, (ii) in the *in vitro* model (L6 muscle cells and adipocytes 3T3 -L1), if T3 and T4 cause the effect described above; and (iii) whether this effect occurs by activation of the signaling pathways of insulin and/or muscle contraction. Our *in vivo* studies demonstrate that administration of T3 rapidly increased the amount of GLUT4 in the fraction corresponding to the plasma membrane in skeletal muscle and adipose tissue. However, this action did not depend on the activation of PI3-K and AMPK. *In vitro* studies showed that T3 quickly increases the glucose uptake in L6 cells, but without changing the amount of GLUT4 present in the membrane. These results suggest that this action of T3 occurs due to activation of GLUT4 already present in the membrane or due to some process which does not depend on this protein. Our results demonstrate that other than its known genomic actions, TH acts through nongenomic mechanisms regulating GLUT4 translocation. In addition, they strongly suggest that T3 participates, also through non-genomic mechanisms, in the activation process of GLUT4 already inserted in the membrane.

Keywords: Thyroid Hormone. Nongenomic Actions. GLUT4. Glucose Uptake.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hormônios Tireoidianos

Os hormônios tireoidianos (HTs) possuem um importante papel na diferenciação, no crescimento e no metabolismo. Suas ações são necessárias para o funcionamento normal de todos os tecidos, participando principalmente da regulação do consumo de oxigênio e da taxa metabólica (OPPENHEIMER et al., 1987).

Os hormônios tireoidianos, T4 e T3 são sintetizados na glândula tireóide e podem exercer seus efeitos em vários locais, agindo principalmente na regulação da transcrição de genes alvo. As ações genômicas dos HTs decorrem basicamente da interação do T3 com seu receptor nuclear (TR), proteína que tem afinidade cerca de 10 vezes maior pelo T3 que pelo T4. Os TRs estão intimamente associados com o DNA e ligam com alta afinidade e especificidade o T3. A ligação do T3 ao seu TR é um processo complexo e envolve a participação de proteínas co-ativadoras e co-repressoras, que se associam ou se dissociam dos TRs, e disso resulta a indução ou redução da síntese de proteínas específicas, responsáveis pelos efeitos biológicos do T3 (JEPSEN et al., 2002; FONDELL et al., 1999). Dessa forma, as ações genômicas dos HTs se manifestam em um período de tempo longo o suficiente para permitir a transcrição de genes específicos, o processamento do mRNA até a sua forma madura e a tradução subsequente em proteínas.

Por outro lado, são crescentes na literatura as evidências de que os HTs também promovem efeitos que ocorrem em um curto espaço de tempo (poucos minutos) e que se manifestam mesmo na presença de inibidores da transcrição gênica, o que demonstra que algumas ações dos HTs não dependem da interação do hormônio com o seu receptor nuclear associado ao TRE (elemento responsivo ao HT), e ocorrem por intermédio de outro mecanismo que não o nuclear, sendo, portanto, conhecidas como ações não genômicas ou extranucleares (CAO et al., 2005; MEZOSI et al., 2005; DAVIS et al., 1996). Outra particularidade das ações não genômicas é que elas podem ser desencadeadas também pelo T4, rT3 e T2, bem como pelo T3; ao contrário das ações nucleares que são protagonizadas basicamente pelo T3, conforme salientado (MEZOSI et al., 2005).

Há evidências de ações não genômicas dos HTs: (a) na membrana plasmática, onde são descritos efeitos estimulantes do HT sobre o transporte de glicose, Ca^{++} e Na^+ (DAVIS et al., 1996; SEGAL et al., 1989 b; INCERPI et al., 1999); (b) em várias organelas celulares, como na mitocôndria, onde facilitaria o transporte de ADP para o seu interior e a formação de ATP

(DAVIS; DAVIS, 1996) e no retículo sarcoplasmático, onde aumentaria a atividade da bomba de cálcio (SERCA) (ZINMAN et al., 2006), efeito que se somaria a sua ação transcricional bastante conhecida sobre a expressão gênica da SERCA; (c) no citoesqueleto, promovendo polimerização da actina em células gliais (LEONARD et al., 1990), ósseas (LUEGMAYR et al., 1996) e hipofisárias (GOULART-SILVA et al., 2006); (d) sobre a atividade de quinases específicas, como a proteína quinase C (PKC), a (PKA), a piruvato quinase M2 (PKM2) e a mitogen activated protein Kinase (MAPK), que parecem ser as mediadoras dos efeitos não genômicos desses hormônios (DAVIS; DAVIS, 1996; DAVIS et al., 2000; LIN et al., 1999), e (e) em mRNAs específicos, alterando sua estabilidade e sua taxa de tradução (DAVIS; DAVIS, 1996), entre outras.

O músculo esquelético é um importante alvo da ação do HT. Neste tecido o HT induz a expressão de genes envolvidos com o controle do metabolismo, assim como daqueles relacionados à sua atividade mecânica. No primeiro grupo podemos incluir o gene da Mioglobina (SANTOS; GIANNOCCO; NUNES, 2001; CLÉMENT et al., 2002) e do GLUT-4 (WEINSTEIN et al., 1994; CASLA; ROVIRA; WELLS, 1990) e, no segundo, o gene que codifica a isoforma II da cadeia pesada da miosina (MHCII) (FITTS et al., 1980; SANTOS; GIANNOCCO; NUNES, 2001) e o da bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático (SERCA) (NUNES et al., 1985; ROHER et al., 1988). Em paralelo às suas ações nucleares, ações extranucleares também têm sido descritas neste tecido, como a elevação da atividade da SERCA e da captação de glicose, fenômenos observados em células em cultura (SEGAL et al., 1989a; ZINMAN et al., 2006).

No tecido adiposo, efeitos nucleares do HT também são descritos, como o aumento da transcrição do gene que codifica o receptor β adrenérgico, do qual resulta o conhecido efeito lipolítico deste hormônio (VIGUERIE et al., 2002).

1.2 Transportadores de Glicose (GLUTs)

A glicose é um combustível essencial em mamíferos e um substrato metabólico de grande importância. Ela é obtida diretamente a partir da dieta, principalmente após a hidrólise dos dissacarídeos e polissacarídeos ingeridos ou pela síntese endógena a partir de outros substratos como o glicerol e o piruvato. A glicose proveniente da dieta é transferida do lúmen do intestino delgado para os enterócitos e, juntamente com a glicose endógena, deve ser transportada da circulação para células alvo. Esse processo envolve a transferência da glicose através da

membrana plasmática e isso ocorre via proteínas integrais da membrana. Estas proteínas compreendem dois grupos estrutural e funcionalmente distintos de transportadores de glicose, identificados há mais de duas décadas: o co-transportador glicose/sódio (SGLT, membro de uma grande família de transportadores de glicose dependentes de sódio, nome do gene SLC5A) e o transportador de glicose sódio independente (GLUT, nome do gene SLC2A) (WRIGHT et al., 2001; MUECKLER et al., 1994; JOOST E THORENS et al., 2001).

Os transportadores de glicose (GLUTs) apresentam 12 domínios transmembrânicos com as regiões amino terminal e carboxi terminal localizadas no citosol. Possuem ainda um grande domínio extracelular entre os segmentos transmembrânicos 1 e 2, o qual contém um sítio de glicosilação (MUECKLER et al., 1985).

Os GLUTs permitem o fluxo de glicose e outros açúcares através da membrana plasmática por difusão facilitada (gradiente de concentração) e diferem entre si em relação à especificidade pelo substrato, propriedades cinéticas e expressão tecidual.

Os transportadores de glicose (GLUTs) são divididos em 3 classes, de acordo com as suas características estruturais (SCHEEPERS; JOOST; SCHURMANN, 2004; MACHADO; SCHAAN; SERAPHIM, 2006; ULDRY et al., 2004). A classe I dos transportadores de glicose compreende os GLUTs 1-4, os quais têm sido amplamente caracterizados segundo sua estrutura, função e distribuição nos tecidos. O GLUT1 é expresso em todos os tecidos e apresenta um baixo Km, sendo, portanto, o principal transportador de glicose quando esta se encontra em níveis fisiológicos na corrente sanguínea; desta forma, garante o transporte basal de glicose a todos os tecidos (GOROVITS et al., 2003). O GLUT2 é expresso, predominantemente, nos hepatócitos e nas células β pancreáticas; apresenta alto Km, tendo, portanto, maior capacidade de transportar a glicose quando esta se encontra elevada na corrente sanguínea. Ele é importante para garantir o armazenamento de glicose, ou o seu efluxo, no tecido hepático e a secreção de insulina (GOROVITS et al., 2003). O GLUT 3 tem alta afinidade por glicose e está presente em tecidos que demandam grande quantidade de glicose, como o cérebro e o tecido muscular (HABER et al., 1993; STUART; WEN; JIANG, 1999). O GLUT4 é expresso no tecido muscular esquelético, cardíaco e adiposo branco e marrom. Tal qual o GLUT2, o GLUT4 apresenta elevado Km, sendo a única isoforma cuja translocação e inserção à membrana plasmática é induzida pela insulina.

A classe II dos transportadores de glicose abrange o GLUT5, GLUT7, GLUT9 e o GLUT11. O GLUT5, que possui alta especificidade pela frutose, é expresso predominantemente

no intestino delgado, testículos e rins. O GLUT7 é o mais recente membro da família dos GLUTs a ser caracterizado. Ele é expresso na membrana apical do intestino delgado e grosso e tanto a glicose quanto a frutose parecem ser seus substratos (CHEESEMAN et al., 2008). O GLUT9 é expresso no fígado e rins e apresenta como substrato a glicose e o ácido úrico (PHAY; HUSSAIN; MOLEY, 2000; AUGUSTIN et al., 2004; DOBLADO et al., 2009). O GLUT 11 apresenta duas formas (uma curta e outra longa), sendo o transportador de glicose que exibe a maior similaridade com o transportador de frutose GLUT5. É expresso no coração, músculo esquelético, tecido adiposo, rins e pâncreas e transporta glicose quando esta se encontra em altas concentrações na corrente sanguínea, sendo que este transporte é inibido pela frutose (DOEGE et al., 2001; SCHEEPERS et al., 2005).

A classe III dos transportadores de glicose compreende 5 membros: GLUT6, GLUT8, GLUT10, GLUT12 e o HMIT (Transportador de H⁺ ligado ao mio-inositol). O GLUT6 apresenta baixa afinidade por glicose e é expresso no cérebro, leucócitos e baço, enquanto que o GLUT 8 apresenta alta afinidade por glicose e é expresso principalmente nos testículos (DOEGE et al., 2000). O GLUT 10 é predominantemente expresso no fígado e pâncreas e está associado com o diabetes do tipo 2 (DAWSON et al., 2001; MCVIE-WYLIE et al., 2001). O GLUT 12 é expresso predominantemente no coração e próstata; o HMIT no cérebro (WOOD et al., 2003; SCHEEPERS; JOOST; SCHURMANN, 2004).

1.3 GLUT4

O GLUT4 foi descoberto em meados da década de 90, quando pesquisadores de grupos distintos clonaram e caracterizaram uma proteína transportadora de glicose sensível à insulina; desde então, o GLUT4 tem recebido mais atenção do que qualquer outro membro desta família (JAMES; STRUBE; MUECKLER, 1989; CHARRON et al., 1989; BIRNBAUM et al., 1989).

O GLUT4 é responsável pela captação de glicose quando esta se encontra em concentrações elevadas na circulação sanguínea, situação em que ocorre aumento da secreção de insulina. Essa proteína vem sendo alvo de muitos estudos, considerando o aumento alarmante da incidência da resistência insulínica na população mundial, o que predispõe ao Diabetes tipo II. O GLUT4 encontra-se inserido na membrana de vesículas intracelulares, presentes na região perinuclear e no citoplasma das células. Essas vesículas, sob estímulo específico, deslocam-se para a membrana plasmática, onde se fundem. Esse processo resulta na incorporação de várias

moléculas de GLUT4 na membrana plasmática, possibilitando assim o influxo de glicose nas células que as expressam (GOROVITS et al., 2003).

A translocação do GLUT4 para a membrana plasmática é estimulada por alguns fatores, entre eles, a insulina e o exercício físico. A insulina desencadeia seus efeitos biológicos mediante a fosforilação de proteínas, promovendo, entre outras ações, o aumento do transporte da glicose para as células (NYSTROM et al., 1999). Para realizar esses efeitos a insulina interage com seu receptor, o qual se encontra na superfície das células dos tecidos alvos. O receptor da insulina (IR) é uma proteína heterotetramérica, que possui uma atividade tirosina cinase intrínseca. Essa proteína é composta de duas subunidades α extracelulares, as quais contêm o sítio de ligação para a insulina; e duas subunidades β transmembrana. É na porção intracelular da subunidade β , que se encontram os domínios tirosina cinase. A ligação da insulina à subunidade α provoca uma alteração conformacional que resulta na autofosforilação da subunidade β do receptor, aumentando a atividade cinase dessa proteína (WATSON et al., 2001; CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002). Uma vez ativado, o receptor da insulina (IR) fosforila vários substratos proteicos, entre eles a família de substratos para o receptor de insulina (IRS 1-4), Shc, Gab-1, p60doc, Cbl, JAK2 e APS. Após a fosforilação dos IRS em resíduos de tirosina, estes substratos servem como local de ancoragem para proteínas que possuem o domínio SH2. Muitas destas proteínas são moléculas adaptadoras tais como a subunidade regulatória p85 da fosfatidilinositol-3 cinase (PI3-K), (SALTIEL et al., 2001; WATSON et al., 2001; CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002).

A PI3-K é uma enzima de fundamental importância na regulação das ações metabólicas da insulina. Esta proteína é formada por uma subunidade regulatória (p85) e uma subunidade catalítica (p110), a qual catalisa a fosforilação dos fosfoinosítídeos na posição 3 do anel inositol produzindo fosfatidilinositol-3-fosfato, fosfatidilinositol-3,4-difosfato e fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato. A fosforilação na posição 3 recruta proteínas como a PDK-1 (proteína cinase 1 dependente de PI-3K) e a AKT (SALTIEL et al., 2001; CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002; KHAN et al., 2002; KROOK; WALLBERG-HENRIKSSON; ZIERATH, 2004). Em seguida, PDK-1 fosforila e ativa a AKT e isoformas da proteína cinase C (PKC) atípica (ζ , λ). Um dos mais importantes resultados da ativação da AKT é a elevação da captação de glicose através do aumento da translocação do GLUT 4 (ŽDYCHOVÁ et al., 2005). Da mesma forma,

PKC ζ e PKC λ aumentam a captação de glicose através da ativação e translocação do GLUT 4 (KHAN et al., 2002; LIU et al., 2006).

Além da ativação da PI3-K, outros sinais também estão envolvidos no transporte de glicose estimulado pela insulina. Um desses sinais envolve a fosforilação do protooncogene Cbl. Na maioria dos tecidos sensíveis à insulina, o Cbl está associado com a proteína adaptadora CAP. Após a fosforilação, o complexo Cbl-CAP migra para a membrana celular e interage com a proteína CrkII, que também está associada com a proteína C3G1. A C3G1 é uma proteína trocadora de nucleotídeos que catalisa a troca de GDP por GTP da proteína TC10 ativando-a. Uma vez ativada, TC10 causa um segundo sinal para a translocação da proteína GLUT-4, em paralelo à ativação da via da PI3-K (KHAN et al., 2002; ISHIKI et al., 2005).

Além da insulina é sabido que o exercício físico também aumenta a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática. Estudos demonstram que homens que participam regularmente de esportes competitivos apresentam uma melhora da tolerância à glicose e níveis de insulina menores, quando comparados aos seus controles. Outros estudos mostram ainda que mulheres hiperinsulinêmicas e obesas apresentaram níveis de insulina no plasma diminuídos após 6 semanas de treinamento físico (BJORNTORP et al., 1970, 1972). Esses estudos sugerem que o exercício físico regular aumenta a sensibilidade à insulina no músculo e em outros tecidos (MONDON; DOLKAS; REAVEN, 1980).

Vários experimentos demonstram um aumento significativo na atividade da AMPK (AMP-activated protein kinase) após a contração muscular por estimulação elétrica *in situ* (VAVVAS et al., 1997; HAYASHI et al., 2000) e após a contração isolada do músculo de ratos *in vitro* (FUJII et al., 2000; MUSI et al., 2005). A AMPK é uma proteína heterotrimérica formada por uma subunidade catalítica (α), que apresenta duas isoformas ($\alpha 1$ e $\alpha 2$) e duas subunidades regulatórias (β e γ), que possuem as seguintes isoformas ($\beta 1$, $\beta 2$, $\gamma 1$, $\gamma 2$ e $\gamma 3$) (HARDIE et al., 1997). A AMPK é ativada quando ocorre a fosforilação no resíduo de treonina 172 na alça de ativação da subunidade α (HARDIE et al., 1997). A ativação é promovida quando ocorre uma alteração no estado energético da célula, assim, quando a relação AMP:ATP está aumentada, ocorre uma alteração conformacional na proteína, deixando-a suscetível a fosforilação e ativação pela AMPK cinase (AMPKK) (HARDIE et al., 2003). A AMPK fosforilada ativa vias que causam o aumento de ATP, tais como as da oxidação de ácidos graxos, e também inibe vias anabólicas que consomem o ATP, tais como a síntese de ácidos graxos. O aumento da atividade

da AMPK, em consequência do maior consumo de ATP durante o exercício físico, causa a translocação das vesículas contendo GLUT4, promovendo assim, o transporte de glicose para o músculo, de modo semelhante à insulina, embora por vias de sinalização independentes (MCGEE et al., 2003).

Após a translocação, o GLUT4 precisa ser inserido na membrana plasmática (MP); esse processo envolve alguns passos, entre eles a ancoragem e a fusão do GLUT4 à MP (ZAID et al., 2008). Durante a translocação e posterior fusão do GLUT4 à MP, há envolvimento de dois grupos de proteínas: as v-SNAREs e as t-SNAREs. Algumas dessas proteínas (VAMP2, syntaxin4, SNAP23 e munc18) controlam a fusão das vesículas contendo o GLUT4 com a MP. A insulina recruta as vesículas contendo o GLUT4 através da fosforilação da VAMP2, que por sua vez interage com SNAP23 e syntaxin4 formando um complexo ternário. Simultaneamente à formação desse complexo ocorre a dissociação da proteína synip da syntaxin4 e a alteração conformacional da munc18c expondo o domínio de ligação do complexo ternário e, dessa forma, promovendo a fusão das vesículas contendo o GLUT4 com a MP (WATSON et al., 2001; HE et al., 2007).

1.4 Hormônios Tireoidianos e GLUT4

Já é bastante conhecido que nos estados de hipertireoidismo ocorre um aumento da utilização de glicose pelas células. Esse efeito tem sido descrito como decorrente de ações que alteram a atividade das enzimas envolvidas com a via glicolítica e oxidativa, promovendo a ativação do metabolismo da glicose, o que reduziria o conteúdo intracelular de glicose, gerando um gradiente que favoreceria sua entrada nas células (CHEN-ZION; BASSUKEVITZ; BEITNER, 1995). Soma-se a essas ações o efeito transcricional do HT sobre a expressão do gene SLC2A4 (SHIMIZU et al., 2002).

Nosso laboratório vem investigando o papel do hormônio tireoidiano na expressão do gene SLC2A4, não só no músculo esquelético, mas também no músculo cardíaco e tecido adiposo. Nossos estudos dão suporte aos trabalhos da literatura que demonstraram que, nesses tecidos, cuja expressão do GLUT4 é normalmente bastante elevada, o tratamento crônico com T3 provoca aumento ulterior da mesma, ocorrendo o contrário nos estados de hipotireoidismo (CASLA; ROVIRA; WELLS, 1990; GOSTELI-PETER; SCHMID; ZAPF, 1996; TORRANCE et al., 1997a; SHIMIZU et al., 2002). Estudos recentes indicam ainda, que o T3 aumenta a

translocação de GLUT3, mecanismo pelo qual o T3 poderia também promover aumento da captação de glicose (DIMITRIADIS et al., 2005). Esses achados colocam o T3 como um hormônio importante para a regulação da homeostase glicêmica.

Nesse sentido, o tecido muscular esquelético torna-se um importante alvo da ação do T3, uma vez que ele se destaca dos demais como o principal tecido responsável pela utilização da glicose, já que 40% da massa corporal correspondem aos músculos esqueléticos. O músculo esquelético é formado por uma mistura de diferentes tipos de fibras (NEMETH e PETTE, 1981) que são geralmente classificadas por suas características contráteis e metabólicas, bem como por sua coloração. Dessa forma, as fibras musculares vermelhas possuem elevada capacidade oxidativa, e podem ser de contração rápida ou lenta, dependendo se expressam predominantemente MHCII ou I, respectivamente, ao passo que as fibras brancas são glicolíticas e de contração rápida, pois expressam predominantemente MHCII. A sensibilidade à insulina e a taxa máxima de transporte de glicose são também diferentes entre as fibras musculares vermelhas e brancas, de forma que as brancas são menos sensíveis à insulina em relação às vermelhas (JAMES; JENKINS; KRAEGEN, 1985; RICHTER; HANSEN; HANSEN, 1988).

Estudos em andamento no nosso laboratório têm demonstrado que além de induzir a expressão do GLUT4, o T3 é capaz de promover a translocação dessa proteína em direção à membrana plasmática (BRUNETTO et al., 2006; GIANNOCCO et al., 2006). Esses estudos foram desenvolvidos em tecido muscular esquelético e cardíaco, e mostraram que ratos previamente tireoidectomizados apresentam incremento da taxa de translocação de GLUT4 30 minutos após a administração de doses suprafisiológicas de T3 (100 µg/100 g, PC), o que sugere fortemente uma ação não genômica do HT. Esses dados corroboram estudos *in vitro*, relatados na literatura, que demonstraram que o HT induz, em um curto espaço de tempo, o aumento da captação de glicose por miócitos mantidos em meio de incubação contendo glicose marcada (SEGAL et al., 1989a). Além disso, estudos mostram a presença de um elemento responsivo ao HT (TRE) na região promotora do gene SLC2A4, bastante diferente dos TREs presentes em outros tecidos, já que possui baixa afinidade pelo receptor do HT, o que sugere que outro mecanismo, além do transcricional, possa estar envolvido nas ações promovidas pelo hormônio tireoidiano sobre a expressão deste gene (TORRANCE et al., 1997b).

Contudo, o mecanismo pelo qual essas ações não genômicas do HT são estabelecidas ainda não está totalmente esclarecido, sendo motivo de vários estudos. Sabe-se que algumas

cinases participam como intermediárias dessas ações não genômicas. Assim, tem-se que o HT promove, por via extranuclear, a fosforilação da isoforma β do receptor de HT, o TR β , por meio da ativação da MAPK. Em outras palavras, descreveu-se uma ação não genômica do HT precedendo a sua ação genômica. Essa via de sinalização também está envolvida na angiogênese induzida não genomicamente pelo T3. Já o aumento da atividade do trocador Na⁺/H⁺ induzido pelo T3 parece depender da ativação da PKC (DAVIS; DAVIS; 1996; DAVIS; DAVIS; CODY, 2005).

Mais recentemente foi evidenciado que tanto o T4 quanto o T3 se ligam à isoforma da integrina α V β 3, mecanismo pelo qual ocorreria a ativação da PKC e MAPK (DAVIS; DAVIS; CODY, 2005). Sabe-se, ainda, que a integrina, que é uma proteína de matriz extracelular, exerce um papel estrutural muito importante, já que conecta a matriz extracelular ao citoesqueleto de actina das células. Além disso, sabe-se que o tráfego de vesículas para a membrana plasmática depende de um citoesqueleto altamente organizado, uma vez que agentes que impedem o remodelamento da actina, impedem a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática (BROZINICK et al., 2004). O HT participa do controle da expressão de genes envolvidos na manutenção da arquitetura celular; Também exerce efeitos não genômicos sobre a polimerização da actina do citoesqueleto, os quais foram descritos em células gliais, osteoblásticas e hipofisárias; e são mecanismos pelos quais ele poderia influenciar no tráfego de vesículas intracelulares e remodelamento dos tecidos (LEONARD; SIEGRIST-KAISER; ZUCKERMAN, 1990; LUEGMAYR et al., 1996; GOULART-SILVA et al., 2006).

Com relação à translocação de GLUT4 induzida pelo HT, embora ela tenha sido evidenciada no nosso laboratório, os mecanismos envolvidos ainda não foram esclarecidos. Conforme descrito anteriormente, as vias da PI3-K e da Cap-Cbl, ativadas pela insulina, e a da AMPK, ativada pela contração muscular, são peças chaves nesse processo. Assim, é possível que o HT promova ativação de ao menos uma dessas vias.

Nesse sentido, há evidências de que o T3 ativa a via de transdução de sinais da PI3-K/AKT/PKB. Cao et al. (2005) demonstraram que o hormônio tireoidiano participa da ativação da mTOR (mammalian target of rapamycin) e que esta ativação ocorre minutos após a adição de T3. Além disso, essa ativação não é inibida pela cycloheximide (CHX), um inibidor da síntese proteica, demonstrando ser essa uma ação não genômica do T3 e independente de síntese de novas proteínas. Eles evidenciaram também que a ativação da mTOR promovida pelo T3 é

mediada pela PI3-K, e que a PI3-K é capaz de se ligar ao TR independentemente do T3. No entanto, a ligação do T3 ao seu receptor é necessária para a ativação da PI3-K. Cao et al., também demonstraram que o T3 induz a translocação nuclear da AKT/PKB de maneira dependente da PI3-K (CAO et al., 2005).

Estudos têm demonstrado que o T3 também pode aumentar a expressão da AMPK (PARK et al., 2002; WINDER et al., 2003), mas não há estudos relatando se a AMPK é capaz de se ligar ao receptor de hormônio tireoidiano, como foi demonstrado para a PI3-K.

Os resultados obtidos no nosso laboratório evidenciando que a translocação do GLUT4 pode ser induzida pelo HT são de grande importância, pelo que foi relatado e também porque se trata de uma ação não genômica do T3 até então desconhecida, sendo fundamental o esclarecimento dos mecanismos envolvidos nesse efeito. Torna-se interessante avaliar também o efeito do T4 nesse mesmo processo, já que ele tem sido identificado como o principal efetor de algumas das ações não genômicas dos hormônios tireoidianos.

2 CONCLUSÃO

O conjunto dos dados aqui apresentados sugere que ao lado das suas reconhecidas ações genômicas, o T4 e, principalmente, o T3, atuam por mecanismos não genômicos regulando a expressão e translocação do GLUT4 em direção à MP no músculo esquelético e tecido adiposo. Adicionalmente, os nossos dados sugerem fortemente que o T3 participe, também por mecanismos não genômicos, do processo de ativação do GLUT4 já inserido na membrana, o que poderia explicar a elevação da captação de glicose por ele induzida que se mostrou ser independente da inserção de novas moléculas de GLUT4 à membrana plasmática.

REFERÊNCIAS*

ASANO, T.; KATAGIRI, H.; TAKATA, K.; LIN, J. L.; ISHIHARA, H.; INUKAI, K.; TSUKUDA, K.; KIKUCHI, M.; HIRANO, H.; YAZAKI, Y. The role of N-glycosylation of GLUT1 for glucose transport activity. **J. Biol. Chem.**, v. 266, p. 24632-24636, 1991.

ASANO, T.; TAKATA, K.; KATAGIRI, H.; ISHIHARA, H.; INUKAI, K.; ANAI, M.; HIRANO, H.; YAZAKI, Y.; OKA, Y. The role of N-glycosylation in the targeting and stability of GLUT1 glucose transporter. **FEBS Letters**, v. 21, p. 258-261, 1993.

AUGUSTIN, R.; CARAYANNOPOULOS, M. O.; DOWD, L. O.; PHAY, J. E.; MOLEY, J. F.; MOLEY, K.H. Identification and characterization of human glucose transporter-like protein-9 (GLUT9): alternative splicing alters trafficking. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 16229-16236, 2004.

BIRNBAUM, M. J. Identification of a novel gene encoding an insulin-responsive glucose transporter protein. **Cell**, v. 57, p. 305-315, 1989.

BJORNTORP, P.; DE JOUNGE, K.; SJOSTROM, L.; SULLIVAN, L. The effect of physical training on insulin production in obesity. **Metabolism**, v. 19, n. 8, p. 631-638, 1970.

BJORNTORP, P.; FAHLEN, M.; GRIMBY, G.; GUSTAFSON, A.; HOLM, J.; RENSTROM, P.; SCHERSTEN, T. Carbohydrate and lipid metabolism in middle-aged, physically well-trained men. **Metabolism**, v. 21, n. 11, p. 1037-1104, 1972.

BROZINICK, J. T. JR.; HAWKINS, E. D.; STRAWBRIDGE, A. B.; ELMENDORF, J. S. Disruption of Cortical Actin in Skeletal Muscle Demonstrates an Essential Role of the Cytoskeleton in Glucose Transporter 4 Translocation in Insulin-sensitive Tissues. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 40699-40706, 2004.

BRUNETTO, E. L.; GIANNOCCO, G.; MACHADO, U. F.; NUNES, M. T. Efeito do hormônio tireoideano aumenta a expressão gênica e a translocação do transportador de glicose (GLUT4) no músculo esquelético e cardíaco. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 3, 2006. Suplemento 1.

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

CAO, X.; KAMBE, F.; MOELLER, L. C.; REFETOFF, S.; SEO, H. Thyroid hormone induces rapid activation of Akt/protein kinase B-mammalian target of rapamycin-p70S6K cascade through phosphatidylinositol 3-kinase in human fibroblasts. **Mol. Endocrinol.**, v. 16, p. 102-112, 2005.

CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 46, p. 419-425, 2002.

CASLA, A.; ROVIRA, A.; WELLS, J. A.; DOHM, G. L.; Increase glucose transporter (GLUT4) protein expression in hyperthyroidism. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 171, p. 182-188, 1990.

CHARRON, M. J.; BROSIUS, F.C; 3rd.; ALPER, S. L.; LODISH, H. F. A glucose transport protein expressed predominately in insulin-responsive tissues. **Biochemistry**, v. 86, p. 2535-2539, 1989.

CHEESEMAN, C. GLUT7: a new intestinal facilitated hexose transporter. **AM. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 295, p. 238-241, 2008.

CHEN-ZION, M.; BASSUKEVITZ, Y.; BEITNER, R. Rapid changes in carbohydrate metabolism in muscle induced by triiodothyronine; the role of glucose 1,6-bisphosphate. **Biochem. Mol. Med.**, v. 56, p. 19-25, 1995.

CHIANG, S. H.; BAUMANN, C. A.; KANZAKI, M.; THURMOND, D. C.; WATSON, R. T.; NEUDAUER, C. L.; MACARA, I. G.; PESSIN, J. E.; SALTIEL, A. R. Insulin stimulated GLUT4 translocation requires the CAP-dependent activation of TC10. **Nature**, v. 410, p. 944-948, 2001.

CHIELLINI, G.; APRILETTI, J. W.; YOSHIHARA, H. A.; BAXTER, J. D.; RIBEIRO, R. C.; SCANLAN, T. S. A high-affinity subtype-selective agonist ligand for the thyroid hormone receptor. **Chem. Biol.**, v. 5, p. 299-306, 1998.

CHOU, S. W.; CHIU, L. L.; CHO, Y. M.; HO, H. Y.; IVY, J. L.; HO, C. F.; KUO, C. H. Effect of systemic hypoxia on GLUT4 protein expression in exercised rat heart. **Jpn. J. Physiol.**, v. 54, p. 357-363, 2004.

CLÉMENT, K.; VIGUERIE, N.; DIEHN, M.; ALIZADEH, A.; BARBE, P.; THALAMAS, C.; STOREY, D. J.; BROWN, P. O.; BARSH, S. G.; LANGIN, D. In vivo regulation of human skeletal muscle gene expression by thyroid hormone. **Genome. Res.**, v. 12, p. 281-291, 2002.

DA SILVA, F. G.; GIANNOCCO, G.; LUCHESSI, A. D.; CURI, R.; NUNES, M. T. T3 acutely increases GH mRNA translation rate and GH secretion in hypothyroid rats. **Mol. Cell. Endocrinol.**, v. 317, p. 1-7, 2009.

DAVIS, J. P.; DAVIS, F. B. Nongenomic actions of thyroid hormone. **Thyroid**, v. 6, p. 497-504, 1996.

DAVIS, J. P.; DAVIS, F. B.; CODY, V. Membrane receptors mediating thyroid hormone action. **Endocrinol. Metab.**, v. 16, p. 429-435, 2005.

DAVIS, J. P.; LEONARD, J. L.; DAVIS, F. B. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. **Front. Neuroendocrinol.**, v. 29, p. 211-218, 2008.

DAVIS, P. J.; SHIH, A.; LIN, H. Y.; MARTINO, L. J.; DAVIS, F. B. Thyroxine promotes association of mitogen-activated protein kinase and nuclear thyroid hormone receptor (TR) and causes serine phosphorylation of TR. **J. Biol. Chem.**, v. 275, p. 38032-38039, 2000.

DAWSON, P. A.; MYCHALECKYJ, J. C.; FOSSEY, S. C.; MIHIC, S. J.; CRADDOCK, A. L.; BOWDEN, D. W. Sequence and functional analysis of GLUT10: a glucose transporter in the Type 2 diabetes-linked region of chromosome 20q12-13.1. **Mol. Genet. Metab.**, v. 74, p. 186-199, 2001.

DIMITRIADIS, G.; MARATOU, E.; ALEVIZAKI, M.; BOUTATI, E.; PSARA, K.; PAPASTERIADES, C.; RAPTIS, S. A. Thyroid hormone excess increases basal and insulin-stimulated recruitment of GLUT3 glucose transporters on cell surface. **Horm. Metab. Res.**, v. 37, p. 15-20, 2005.

DOBLADO, M.; MOLEY, K. H. Facilitative glucose transporter 9, a unique hexose and urate transporter. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 297, p. 831-835, 2009.

DOEGE, H.; BOCIANSKI, A.; SCHEEPERS, A.; AXER, H.; ECKEL, J.; JOOST, H. G. SCHURMANN, A. Characterization of human glucose transporter (GLUT) 11 (encoded by SLC2A11), a novel sugar-transport facilitator specifically expressed in heart and skeletal muscle. **Biochem. J.**, v. 359, p. 443-9, 2001.

DOEGE, H.; SCHURMANN, A.; BAHRENBERG, G.; BRAUERS, A.; JOOST, H. G. GLUT8, a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity. **J. Biol. Chem.**, v. 275, p. 16275-16280, 2000.

ELSHAL, M. F.; MCCOY, J. P. Multiplex bead array assays: performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. **Methods**, v. 38, p. 317-323, 2006.

FITTS, R. H.; WINDER, W. W.; BROOKE, M. H.; KAISER, K. K.; HOLLOSZY, J. O. Contractile, biochemical, and histochemical properties of thyrotoxic rat soleus muscle. **Am. J. Physiol.**, v. 238, p. 15-20, 1980.

FONDELL, J. D.; GUERMAH, M.; MALIK, S.; ROEDER, R. G.; Thyroid hormone receptor associated proteins and general positive cofactors mediate thyroid hormone receptor function in the absence of the TATA box-binding protein-associated factors of TFIID. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 96, p. 1959-64, 1999.

FUJII, N.; HAYASHI, T.; HIRSHMAN, M. F.; SMITH, J. T.; HABINOWSKI, S. A.; KAIJSER, L.; MU, J.; LJUNGQVIST, O.; BIRNBAUM, M. J.; WITTERS, L. A.; THORELL, A.; GOODYEAR, L. J. Exercise induces isoform-specific increase in 5'AMP-activated protein kinase activity in human skeletal muscle. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 273, n. 3, p. 1150-1155, 2000.

GIANNOCCO, G.; BRUNETTO, E. L.; GOULART-SILVA, F.; MACHADO, U. F.; NUNES, M. T. O hormônio tireoideano (T3) aumenta a expressão e a translocação do transportador de glicose em músculo cardíaco de ratos por um provável mecanismo extracelular. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 3, p. S252, Suplemento 1, 2006.

GOROVITS, N.; CHARRON, M. J. Mini-Series: Modern Metabolic Concepts. What We Know about Facilitative Glucose Transporters. **Biochem. Mol. Biol. Educ.**, v. 3, p. 163-172, 2003.

GOSTELI-PETER, M. A.; SCHMID, C.; ZAPF, J. Triiodothyronine Increases Glucose Transporter Isotype 4 mRNA Expression, Glucose Transport, and Glycogen Synthesis in Adult Rat Cardiomyocytes in Long-Term Culture. **Biochem. Biophys. Res.** v. 25, p. 521-524, 1996.

GOULART-SILVA F.; GIANNOCCO, G.; SANTOS, M. F.; NUNES, M. T. Thyroid hormone induction of actin polymerization in somatotrophs of hypothyroid rats: potential repercussions in growth hormone synthesis and secretion. **Endocrinology**, v. 147, p. 5777-5785, 2006.

HABER, R. S.; WEINSTEIN, S. P.; O'BOYLE, E.; MORGELLO, S. Tissue distribution of the human GLUT3 glucose transporter. **Endocrinology**, v. 132, p. 2538-2543, 1993.

HARDIE, D. G.; CARLING, D. The AMP-activated protein kinase--fuel gauge of the mammalian cell? **Eur. J. Biochem.**, v. 246, n. 2, p. 259-273, 1997.

HARDIE, D. G.; SCOTT, J. W.; PAN, D. A.; HUDSON, E. R. Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system. **FEBS Letters**, v. 546, n. 1, p. 113-120, 2003.

HAYASHI, T.; HIRSHMAN, M. F.; FUJII, N.; HABINOWSKI, S. A.; WITTERS, L. A.; GOODYEAR, L. J. Metabolic stress and altered glucose transport: activation of AMP-activated protein kinase as a unifying coupling mechanism. **Diabetes**, v. 49, n. 4, p. 527-531, 2000.

HE, A.; LIU, X.; LIU, L.; CHANG, Y.; FANG, F. How many signals impinge on GLUT4 activation by insulin? **Cell Signal.**, v. 19, p. 1-7, 2007.

HIGAKI, Y.; HIRSHMAN, M. F.; FUJII, N.; GOODYEAR, L. J. Nitric oxide increases glucose uptake through a mechanism that is distinct from the insulin and contraction pathways in rat skeletal muscle. **Diabetes**, v. 50, p. 241-247, 2001.

HIROI, Y.; KIM, H. H.; YING, H.; FURUYA, F.; HUANG, Z.; SIMONCINI, T.; NOMA, K.; UEKI, K.; NGUYEN, N. H.; SCANLAN, T. S.; MOSKOWITZ, M. A.; CHENG, S. Y.; LIAO, J. K. Rapid nongenomic actions of thyroid hormone. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 103, p. 14104-14049, 2006.

INCERPI, S.; LULY, P.; VITO, P. D.; FARIAS, R. N. Short-term effects of thyroid hormones on the Na/H antiport in L-6 myoblasts: high molecular specificity for 3,3*,5-triiodo-l-thyronine. **Endocrinology**, v. 140, p. 683-689, 1999.

IORDANIDOU, A.; HADZOPOULOU-CLADARAS, M.; LAZOU, A. Non-genomic effects of thyroid hormone in adult cardiac myocytes: relevance to gene expression and cell growth. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 340, p. 291-300, 2010.

IRRCHEER, I.; WALKINSHAW, D. R.; SHEEHAN, T. E.; HOOD D. A. Thyroid hormone (T3) rapidly activates p38 and AMPK in skeletal muscle in vivo. **J. Appl. Physiol.**, v. 104, p. 178-185, 2008.

ISHIKI, M.; KLIP, A. Recent developments in the regulation of glucose transporters-4 traffic: new signals, locations and partners. **Endocrinology**, v. 146, p. 5071-5078, 2005.

JAMES, D. E.; JENKINS, A. B.; KRAEGEN, E. W. Heterogeneity of insulin action in individual muscles in vivo: euglycemic clamp studies in rats. **Am. J. Physiol.**, v. 248, p. E567-574, 1985.

JAMES, D. E.; STRUBE, M.; MUECKLER, M. Molecular Cloning and Characterization of an insulin-related glucose transporter. **Nature**, v. 338, p. 83-77, 1989.

JEPSEN, K.; ROSENFELD, M. G.; Biological roles and mechanistic actions of corepressor complexes. **J. Cell Sci.**, v. 115, p. 689-698, 2002.

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

JOSSEAUME, C.; LORCY, Y. Thyroid hormone analogs: an important biological supply and new therapeutic possibilities. **Ann. Endocrinol.**, v. 69, p. 33-36, 2008.

KANE, S.; SANO, H.; LIU, S. C.; ASARA, J. M.; LANE, W. S.; GARNER, C. C.; LIENHARD, G. E. A method to identify serine kinase substrates. AKT phosphorylates a novel adipocyte protein with a rab GTPase-activating protein GAP domain. **J. Biol. Chem.**, v. 277, p. 22115-22118, 2002.

KHAN, A. H.; PESSIN, J. E. Insulin regulation of glucose uptake: a complex interplay of intracellular signaling pathways. **Diabetologia**, v. 45, p. 1475-1483, 2002.

KISHI, K.; MUROMOTO, N.; NAKAYA, Y.; MIYATA, I.; HAGI, A.; HAYASHI, H.; EBINA, Y. Bradykinin directly triggers GLUT4 translocation via an insulin-independent pathway. **Diabetes**, v. 47, p. 550-558, 1998.

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

LEONARD, J. L.; SIEGRIST-KAISER, C. A.; ZUCKERMAN, C. J. Regulation of type II iodothyronine 5'-deiodinase by thyroid hormone. Inhibition of actin polymerization blocks enzyme inactivation in cAMP-stimulated glial cells. **J. Biol. Chem.**, v. 15, p. 940-946, 1990.

LIN, H-Y.; DAVIS, F. B.; GORDINIER, J. K.; MARTINO, L. J.; DAVIS, P. J. Thyroid hormone induces activation of mitogen-activated protein kinase in cultured cells. **Am. J. Physiol.**, v. 276, p. 1014–1024, 1999.

LIU, L. Z.; HE, A. B.; LIU, X. J.; CHANG, Y. S.; FANG, F. D. Protein kinase C ζ and glucose uptake. **Biochemistry (Moscow)**, v. 71, p. 701-706, 2006.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-delta delta C(T)) method. **Methods**, v. 25, p. 402-408, 2001.

LUEGMAYR, E.; VARGA, F.; FRANK, T.; ROSCHGER, P.; KLAUSHOFER, K. Effects of triiodothyronine on morphology, growth behavior, and the actin cytoskeleton in mouse osteoblastic cells (MC3T3-E1). **Bone**, v. 18, p. 591-599, 1996.

MACHADO, U. F.; SAITO, M. The effect of adipose cell size on the measurement of GLUT4 in white adipose tissue of obese mice. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 28, p. 369-376, 1995.

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

MACHADO, U. F.; SHIMIZU, Y.; SAITO, M. Decreased glucose transporter (GLUT 4) content in insulin-sensitive tissues of obese aurothioglucose- and monosodium glutamate-treated mice. **Horm. Metab. Res.**, v. 25, p. 462-465, 1993.

MARETTE, A.; RICHARDSON, J. M.; RAMLAL, T.; BALON, T. W.; VRANIC, M.; PESSIN J. E.; KLIP, A. Abundance, localization, and insulin-induced translocation of glucose transporters in red and white muscle. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, v. 263, p. 443-452, 1992.

MCGEE, S. L.; HOWLETT, K. F.; STARKIE, R. L.; CAMERON-SMITH, D.; KEMP; M. HARGREAVES, B. E. Exercise increases nuclear AMPK alpha2 in human skeletal muscle. **Diabetes**, v.52, n. 4, p. 926-928, 2003.

MCGOWAN, K. M.; LONG, S. D.; PEKALA, P. H. Glucose transporter gene expression: regulation of transcription and mRNA stability. **Pharmacol. Ther.** v. 66, p. 465-505, 1995.

MCVIE-WYLIE, A. J.; LAMSON, D. R.; CHEN, Y. T. Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters, SLC2a10 (GLUT10), localized on chromosome 20q13.1: a candidate gene for NIDDM susceptibility. **Genomics**, v. 72, p. 113-117, 2001.

MEZOSI, E.; SZABO, J.; NAGY, E. V.; BORBELY, A.; VARGA, E.; PARAGH, G.; VARGA, Z. Nongenomic effect of thyroid hormone on free-radical production in human polymorphonuclear leukocytes. **J. Endocrinol.**, v. 185, p. 121-129, 2005.

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

MOELLER, L. C.; CAO, X.; DUMITRESCU, A. M.; SEO, H.; REFETOFF, S. Thyroid hormone mediated changes in gene expression can be initiated by cytosolic action of the thyroid hormone receptor beta through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. **Nucl. Recept. Signal.**, v. 4, 2006.

MONDON, C. E.; DOLKAS, C. B.; REAVEN, G. M. Site of enhanced insulin sensitivity in exercise-trained rats at rest. **Am. J. Physiol.**, v. 239, n. 3, p. E169-177, 1980.

MUECKLER, M. Facilitative glucose transporters. **Eur. J. Biochem.**, v. 219, p. 713-725, 1994.

MUECKLER, M.; CARUSO, C.; BADWIN, S. A.; PANICO, M.; BLENCH, I.; MORRIS, H.R.; ALLARD, W. J.; LIENHARD, G. E.; LODISH, H. F. Sequence and structure of a human glucose transporter. **Science**, v. 229, p. 941-945, 1985.

MUSI, N.; HIRSHMAN, M. F.; ARAD, M.; XING, Y.; FUJII, N.; POMERLEAU, J.; AHMAD, F.; BERUL, C. I.; SEIDMAN, J. G.; TIAN, R.; GOODYEAR, L. J. Functional role of AMP-activated protein kinase in the heart during exercise. **FEBS Letters**, v. 579, n. 10, p. 2045-2050, 2005.

NEMETH, P.; PETTE, D. Succinate dehydrogenase activity in fibres classified by myosin ATPase in three hind limb muscles of rat. **J. Physiol.**, v. 320, p. 73-80, 1981.

NUNES, M. T.; BIANCO, A. C.; MIGALA, A.; AGOSTINI, B.; HASSELBACH, W. Thyroxine induced transformation in sarcoplasmic reticulum of rabbit soleus and psoas muscles. **Z. Naturforsch.**, v. 40, p. 726-734, 1985.

NYSTROM, F. H.; QUON, M. J. Insulin signalling: metabolic pathways and mechanisms for specificity. **Cell. Signal.**, v. 11, p. 563-574, 1999.

OPPENHEIMER, J. H.; SCHWARTZ, H. L.; MARIASH C. N.; KINLAW, W. B.; WONG, N. C. W.; FREAKE, H. C. Advances in our understanding of thyroid hormone action at the cellular level. **Endocr. Rev.**, v. 8, p. 288-308, 1987.

PARK, S. H.; PAULSEN, S. R.; GAMMON, S. R.; MUSTARD, K. J.; HARDIE, D. G.; WINDER, W. W. Effects of thyroid state on AMP-activated protein kinase and acetyl-CoA carboxylase expression in muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 93, p. 2081-2088, 2002.

PATEL, N.; RUDICH, A.; KHAYAT, Z. A.; GARG, R.; KLIP, A. Intracellular Segregation Of Phosphatidylinositol-3,4,5-Trisphosphate by Insulin-Dependent Actin Remodeling in L6 Skeletal Muscle Cells. **Mol. Cell. Biol.**, v. 23, p. 4611-4626, 2003.

PHAY, J. E.; HUSSAIN, H. B.; MOLEY, J. F. Cloning and expression analysis of a novel member of the facilitative glucose transporter family, SLC2A9 (GLUT9). **Genomics**, v. 66, p. 217-20, 2000.

PUPO, A. A.; MARREIRO, D. Dosage of insulin levels using radioimmunoassay with double antibodies. **AMB Rev. Assoc. Med. Bras.** v. 16, p. 153-156, 1970.

RANDHAWA, V. K.; ISHIKURA, S.; TALIOR-VOLODARSKY, I.; CHENG, A. W.; PATEL, N.; HARTWIG, J. H.; KLIP, A. GLUT4 vesicle recruitment and fusion are differentially regulated by Rac, AS160, and Rab8A in muscle cells. **J. Biol. Chem.**, v. 3, p. 27208-27219, 2008.

RICHTER, E. A.; HANSEN, B. F.; HANSEN, S. A. Glucose-induced insulin resistance of skeletal-muscle glucose transport and uptake. **Biochem. J.**, v. 252, p. 733-77, 1988.

ROHER, D.; DILLMANN, W. H. Thyroid hormone markedly increases the mRNA coding for sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in the rat heart. **J. Biol. Chem.**, v. 263, p. 6941-6944, 1988.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, p. 799-806, 2001.

SAMUELS, H. H.; STANLEY, F.; CASANOVA, J. Depletion of L-3,5,3'-triiodothyronine and L-thyroxine in euthyroid calf serum for use in cell culture studies of the action of thyroid hormone. **Endocrinology**, v. 105, p. 80-85, 1979.

SANTOS, J. M.; RIBEIRO, S. B.; GAYA, A. R.; APPELL, H. J.; DUARTE, J. A. Skeletal muscle pathways of contraction-enhanced glucose uptake. **Int. J. Sports. Med.**, v. 29, p. 785-794, 2008.

SANTOS, R. A.; GIANNOCCO, G.; NUNES, M. T. Thyroid hormone stimulates myoglobin expression in soleus and extensorum digitalis longus muscles of rats: Concomitant alterations in the activities of krebs cycle oxidative enzymes. **Thyroid**, v. 11, p. 545-550, 2001.

SCHEEPERS, A.; JOOST, H. G., SCHÜRMAN, A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. **JPEN. J. Parenter. Enteral Nutr.**, v. 28, p. 364-371, 2004.

SCHEEPERS, A.; SCHMIDT, S.; MANOLESCU, A.; CHEESEMAN, C. I.; BELL, A.; ZAHN, C.; JOOST, H. G.; SCHURMANN, A.; Characterization of the human SLC2A11 (GLUT11) gene: alternative promoter usage, function, expression, and subcellular distribution of three isoforms, and lack of mouse orthologue. **Mol. Membr. Biol.**, v. 4, p. 339-351, 2005.

SEGAL, J. Acute effect of thyroid hormone on the heart: an extranuclear increase in sugar uptake. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v. 21, p. 323-34, 1989a.

SEGAL, J.; INGBAR, S. H. Evidence that an increase in cytoplasmic calcium is the initiating event in certain plasma membrane-mediated responses to 3,5,3'-triiodothyronine in rat thymocytes. **Endocrinology**, v. 124, p. 1949-1955, 1989b.

SHEEHAN, T. E.; KUMAR, P. A.; HOOD, D. A. Tissue-specific regulation of cytochrome c oxidase subunit expression by thyroid hormone. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 286, p. 968-974, 2004.

SHEUE-YANN, C.; LEONARD J. L.; DAVIS P. J. Molecular Aspects of Thyroid Hormone Actions. **Endocr. Rev.**, v. 31, p. 139-170, 2010.

SHIMIZU, Y.; SHIMAZU, T. Thyroid hormone augments GLUT4 expression and insulin-sensitive glucose transport system in differentiating rat brown adipocytes in culture. **J. Vet. Med. Sci.** v. 64, p. 677-681, 2002.

SOMWAR, R.; KIM, D. Y.; SWEENEY, G.; HUANG, C.; NIU, W.; LADOR, C.; RAMLAL, T.; KLIP, A. GLUT4 translocation precedes the stimulation of glucose uptake by insulin in muscle cells: potential activation of GLUT4 via p38 mitogen-activated protein kinase. **Biochem. J.**, v. 359, p. 639-649, 2001.

STUART, C. A.; WEN, G.; JIANG, J. GLUT3 protein and mRNA in autopsy muscle specimens. **Metabolism**, v. 48, p. 876-880, 1999.

TORRANCE, C. J.; DEVENTE, J. E.; JONES, J. P.; DOHM, G. L. Effects of Thyroid Hormone on GLUT4 Glucose Transporter Gene Expression and NIDDM in Rats. **Endocrinology**, v. 138, p. 1204-1214, 1997a.

TORRANCE, C. J.; USALA, S. J.; PESSIN, J. E.; DOHM, G. L.; Characterization of a low affinity thyroid hormone receptor binding site within the rat GLUT4 gene promoter. **Endocrinology**, v. 138, p. 1215-1223, 1997b.

ULDRY, M.; THORENS, B. The SLC2 family of facilitated hexose and polyol transporters. **Pflugers Arch.**, v. 448, p. 250-260, 2004.

VAVVAS, D.; APAZIDIS, A.; SAHA, A. K.; GAMBLE, J.; PATEL, A.; KEMP, B. E.; WITTERS, L. A.; RUDERMAN, N. B. Contraction-induced changes in acetyl-CoA carboxylase and 5'-AMP-activated kinase in skeletal muscle. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n.20, p. 13255-13261, 1997.

VIGUERIE, N.; MILLET, L.; AVIZOU, S.; VIDAL, H.; LARROUY, D.; LANGIN, D. Regulation of human adipocyte gene expression by thyroid hormone. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 87, p. 630-634, 2002.

VOLPATO, C. B.; SHIRAISHI, E. M.; LATRONICO, A. C.; NUNES, M. T. Thyroid hormone modulates the polyadenylation of growth hormone mRNA in rats. **Endocr. J.** v. 47, p. 169, 2000 (Abstract).

WATSON, R. T.; PESSIN, J. E. Intracellular organization of insulin signaling and GLUT 4 translocation. **Recent Prog. Horm. Res.**, v. 56, p. 175-194, 2001.

WEINSTEIN, S. P.; O'BOYLE, E.; HABER, R. S.; Thyroid hormone increase basal and insulin-stimulated glucose transport in skeletal muscle. The role of GLUT4 glucose transporter expression. **Diabetes**, v. 43, p. 1185-1189, 1994.

WINDER, W. W.; HARDIE, D. G.; MUSTARD, K. J.; GREENWOOD, L. J.; PAXTON, B. E.; PARK, S. H.; RUBINK, D. S.; TAYLOR, E. B. Long-term regulation of AMP-activated protein kinase and acetyl-CoA carboxylase in skeletal muscle. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 31, p. 182-185, 2003.

WOOD, I. S.; TRAYHURN, P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. **Br. J. Nutr.**, v. 89, p. 3-9, 2003.

WRIGHT, E.M. Renal Na⁺-glucose cotransporters. **Am. J. Physiol.**, v. 280, p. 10-18, 2001.

YONEMITSU, N.; TODA, S.; TAKATORI, O.; MIYABARA, S.; SUGIHARA, H. Morphological and functional comparison of subcapsular small cells, subcapsular large cells and inner layer cells of bovine adrenal cortex. **Acta. Pathol. Jpn.** v. 41, p. 428-436, 1991.

YOUN, J. H.; GULVE, E. A.; HOLLOSZY, J. O. Calcium stimulates glucose transport in skeletal muscle by a pathway independent of contraction. **Am. J. Cell. Physiol.**, v. 260, p. 555-561, 1991.

ZAID, H.; ANTONESCU, C. N.; RANDHAWA, V. K.; KLIP, A. Insulin action on glucose transporters through molecular switches, tracks and tethers. **Biochem. J.**, v. 413, p. 201-215, 2008.

ŽDYCHOVÁ, J.; KOMERS, R. Emerging role of Akt kinase/protein kinase B signaling in pathophysiology of diabetes and its complications. **Physiol. Res.**, v. 54, p. 1-16, 2005.

ZINMAN, T.; SHNEYVAYS, V.; TRIBULOVA, N.; MANOACH, M.; SHAINBERG, A. Acute, nongenomic effect of thyroid hormones in preventing calcium overload in newborn rat cardiocytes. **J. Cell. Physiol.**, v. 207, p. 220-231, 2006.