

ANA BÁRBARA TEIXEIRA ALVES WAGNER

EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE HIPERTENSÃO ARTERIAL E
DIABETES NA EXPRESSÃO DO *Slc2a4/GLUT4* NO MÚSCULO
ESQUELÉTICO, PROVÁVEL PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO
AUTÔNOMO SIMPÁTICO β -ADRENÉRGICO

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

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Ubiratan Fabres Machado

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

São Paulo

2012

RESUMO

ALVES-WAGNER A. B. T. **Efeito da associação entre hipertensão arterial e diabetes na expressão do *Slc2a4/GLUT4* no músculo esquelético, provável participação do sistema nervoso autônomo simpático β-adrenérgico.** 2012. 68 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

A proteína GLUT4, codificada pelo gene *Slc2a4* (*Solute carrier 2a4*) é um transportador de glicose responsável à insulina que está localizado principalmente em células musculares e adipócitos. Alterações na expressão do GLUT4 correlacionam-se de maneira direta com o aumento ou diminuição na homeostase glicêmica. Já foi demonstrado que o sistema β-adrenérgico modula a expressão de GLUT4 no jejum, porém pouco se sabe no diabetes. O diabetes pode levar o desenvolvimento de neuropatia, com isso nós hipotetizamos que alterações na atividade β-adrenérgica possa modular a regulação do *Slc2a4/GLUT4* induzida pelo diabetes. Neste trabalho investigamos como a alta atividade simpática atua na expressão do *Slc2a4/GLUT4* em músculo esquelético de ratos Wistar diabéticos e ratos espontaneamente hipertensos (SHR) diabéticos, os quais apresentam alta atividade simpática no músculo esquelético. Primeiramente utilizamos ratos Wistar, Wistar-Kyoto e SHR diabéticos por 1 mês para analisarmos a expressão do *Slc2a4* e do GLUT4 em músculo oxidativo (sóleo) e glicolítico (EDL), comparando com os respectivos animais não diabéticos. O diabetes reduziu a expressão do *Slc2a4* e GLUT4 em animais Wistar, como o esperado. Porém isso não foi observado em Wistar-Kyoto e SHR, com isso decidimos usar o Wistar como controle do SHR. Ratos Wistar diabéticos (W-normotenso) e ratos espontaneamente hipertensos – SHR diabéticos (S-hipertenso) foram tratados com salina (S), insulina (I), propranolol (P) e propranolol+insulina (PI). Os tratamentos foram feitos por uma semana, iniciando-se um mês após a indução do diabetes. Como esperado, o tratamento com insulina reduziu a glicemia, glicosúria e volume urinário, e aumentou o peso nos animais normotensos e hipertensos. O tratamento com propranolol, que reduziu a pressão caudal dos animais hipertensos, não alterou os parâmetros metabólicos analisados. A expressão do *Slc2a4* no sóleo foi aumentada pela insulina, nos normotensos e hipertensos, e reduzida pelo propranolol, somente nos normotensos. No EDL, os resultados foram, no geral, inversos, com a insulina reduzindo e o propranolol aumentando a expressão do mRNA. A associação do propranolol+insulina mostrou que em sóleo o efeito da insulina foi preponderante, entretanto, no EDL o propranolol atenuou o efeito da insulina. Vale

ressaltar que, independente dos tratamentos, a expressão do *Slc2a4* se mostrou sempre mais alta nos animais hipertensos (vs. respectivos animais normotensos), em ambos os músculos estudados. A regulação da expressão da proteína acompanhou parcialmente a regulação do mRNA, mostrando alterações pós-transcpcionais em alguns casos, e alteração por *Tnfa*, em outros casos. No sóleo, os animais hipertensos apresentaram maior quantidade de receptores β_2 -adrenérgicos. Em síntese, conclui-se que nos músculos esqueléticos a alta atividade simpática aumenta a transcrição do *Slc2a4* no diabetes, porém a proteína só aumenta no músculo glicolítico. Estes resultados indicam que o comprometimento da expressão do *Slc2a4* induzido pelo diabetes é menor em animais SHR, provavelmente devido a sua hiper-atividade simpática presente no músculo esquelético.

Palavras-chave: *Slc2a4*. GLUT4. Diabetes mellitus. Atividade simpática β -adrenérgica.

ABSTRACT

ALVES-WAGNER A. B. T. **The effect of hypertension and diabetes association on *Slc2a4/GLUT4* expression, possible β-adrenergic sympathetic nervous system participation.** 2012. 68 p. Ph. D. thesis (Human Physiology) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Slc2a4 gene, which encodes the GLUT4 protein, is expressed in insulin-sensitive tissues, such as muscle cells and adipocytes. Altered GLUT4 expression is directly correlated with alterations in glycemic homeostasis. We have demonstrated that the β-adrenergic system regulates GLUT4 expression during fasting; nevertheless its role in diabetes is not clearly understood. Considering that diabetic subjects can develop autonomic neuropathy, we hypothesize that changes in β-adrenergic activity could modulate diabetes-induced regulation of *Slc2a4/GLUT4* expression. This study investigated the participation of sympathetic nervous system in the regulation of *Slc2a4/GLUT4* expression in skeletal muscle of diabetic-Wistar rats and diabetic-spontaneously hypertensive rats (SHR), the latter presenting high sympathetic activity in the skeletal muscle. Firstly, Wistar, Wistar-Kyoto and SHR rats, were rendered diabetic, and one month later the *Slc2a4* mRNA and GLUT4 protein were analyzed in soleus (oxidative) and extensor digitorum longus (EDL, glycolytic) skeletal muscle, comparing with respective non-diabetic animals. Diabetes significantly reduced *Slc2a4* mRNA and GLUT4 protein in Wistar, as expected. However, that was not observed in diabetic Wistar-Kyoto and SHR. Thus, Wistar rats were chosen as controls for the SHR. Diabetic-Wistar (W-normotensive) and diabetic-SHR (S-hypertensive) rats were treated with saline (S), insulin (I), propranolol (P) and propranolol+insulin (PI) for 1 week, after being kept diabetic for 1 month. As expected, insulin treatment reduced glycemia, urinary volume and glucose, and increased body weight in both SHR and Wistar. Propranolol, in a dose enough to reduce arterial blood pressure in hypertensive rats, did not alter the metabolic parameters. Insulin increased *Slc2a4* mRNA expression in soleus muscle of both groups; whereas propranolol reduced it only in Wistar rats. Conversely, in EDL muscle, insulin decreased whereas propranolol increased the mRNA expression. The association of propranolol+insulin showed that in soleus the effect of insulin was preponderant, whereas in EDL propranolol attenuates the effect of insulin. Importantly, despite the changes induced by treatments, *Slc2a4* expression in both muscles was always higher in SHR than in the respective Wistar group. Finally, the GLUT4 protein expression was regulated similarly to the mRNA

modulation, with some specific discrepancies, indicating post-transcription regulation, or *Tnfa*-related alteration. SHR showed an increase in β_2 -adrenergic protein expression only in soleus muscle. In conclusion, high sympathetic activity increases *Slc2a4* expression in soleus and EDL, however the GLUT4 protein increased only in EDL. These results show that the decrease in *Slc2a4* expression during diabetes is preserved in SHR, probably because their high sympathetic activity in skeletal muscle.

Keywords: *Slc2a4*. GLUT4. Diabetes mellitus. β -adrenergic sympathetic activity.

1 INTRODUÇÃO

O *Slc2a4* (*Solute carrier 2a4*) é o gene que codifica a proteína GLUT4 (*glucose transporter 4*), que é um transportador de glicose responsivo à insulina, e que está localizado principalmente em células musculares e adiposas (SHEPHERD; KAHN, 1999), tecidos com alta capacidade de captação de glicose quando o substrato está disponível abundantemente, tal como no período pós-prandial, no qual a proteína é translocada para a membrana plasmática sob estímulo insulínico (THORENS et al., 1990). Modificações na expressão deste gene, em músculo esquelético e em tecido adiposo, correlacionam-se de maneira direta com aumento ou redução da sensibilidade à insulina (THORENS et al., 1990).

O tecido muscular esquelético é o maior local envolvido na captação de glicose dependente de insulina, responsável por ~ 80% da captação de glicose pós-prandial (BARON et al., 1988), a qual é mediada pelo GLUT4.

O tecido muscular esquelético sóleo é constituído principalmente por fibras musculares vermelhas de contração lenta, oxidativa, do tipo I; enquanto que o extensor digital longo (EDL) é constituído principalmente por fibras musculares brancas de contração rápida, glicolítica, do tipo IIB. Existe uma notável heterogeneidade na sensibilidade e responsividade à insulina entre as diferentes fibras musculares (JAMES; JENKINS; KRAEGEN, 1985), sendo as fibras musculares vermelhas mais sensíveis e responsivas à insulina que fibras musculares brancas (KERN et al., 1990). O transporte de glicose e o conteúdo de GLUT4 são maiores no músculo vermelho que no músculo branco (KERN et al., 1990).

O tecido adiposo branco (WAT, *white adipose tissue*), além de armazenar substrato energético, é capaz de produzir hormônios. O WAT é controlado por interações de fatores humorais (hormônios e substratos) e neurais (sistema nervoso autonômico). Este tecido estoca grande quantidade de triglicerídeos. Insulina e adrenalina são os maiores reguladores do metabolismo do tecido adiposo, entretanto, outros fatores, como glucagon, cortisol e o hormônio do crescimento (GH) também exercem um efeito sobre ele. A insulina estimula a captação de glicose e ácidos graxos no WAT e, simultaneamente estimula a lipogênese e inibe a lipólise. A adrenalina aumenta a lipólise por meio da estimulação da lipase hormônio sensível aumentando a liberação de ácidos graxos e glicerol (FLIERS et al., 2003).

O aumento de ácidos graxos livres está tipicamente associado com estados de resistência à insulina, incluindo obesidade e diabetes mellitus (SHULMAN, 2000). Em um estudo com indivíduos jovens, não obesos, filhos de pacientes com diabetes mellitus tipo 2, foi encontrado uma relação inversa entre a concentração de ácidos graxos livres durante o jejum e a sensibilidade à insulina (PERSEGHIN et al., 1997). Além disso, estudos que mediram o conteúdo de triglicerídeo intramuscular (PAN et al., 1997) e intramiocelular (KRSSAK et al., 1999) mostraram uma forte relação entre acúmulo de triglicerídeo intramiocelular e resistência à insulina.

O diabetes mellitus é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se pela presença de hiperglicemia inapropriada e, frequentemente, por complicações crônicas degenerativas (MASHARANI; KARAM, 2001). O diabetes mellitus é atualmente classificado em tipo 1 (T1DM) ou tipo 2 (T2DM), na maioria dos casos. O T1DM é caracterizado pela destruição, quase sempre por um mecanismo imunológico, das células beta pancreáticas; já o T2DM parece ser consequência de resistência à insulina, e com frequência está associado a obesidade, principalmente visceral, e falta de exercícios (WHITE, 2009).

Foi demonstrado por Camps et al. (1992) que o diabetes experimental, induzido por streptozotocina, leva a uma diminuição na expressão do transportador de glicose GLUT4 no tecido adiposo branco e marrom, e nos músculos cardíaco e esquelético, porém o mRNA aumenta no músculo branco e diminui no vermelho (CAMPIS et al., 1992). Modelo experimental de T2DM, como camundongo tratado com glutamato monossódico, também revelou diminuição da proteína GLUT4 em tecidos adiposo branco, músculo esquelético e coração (MACHADO et al., 1993).

Aloxana e streptozotocina são os químicos diabetogênicos mais conhecidos e usados na pesquisa de diabetes insulino-privo. Ambos são citotóxicos análogos de glicose, e apesar da citotoxicidade ser ativada por vias diferentes, a aloxana gera espécies reativas de oxigênio e a streptozotocina causa o consumo excessivo de ATP celular; os mecanismos de lesão seletiva das células beta pancreáticas são idênticos, sendo causados por necrose celular (LENZEN, 2008).

A etiologia da hipertensão arterial é multifatorial e o estado de resistência à insulina é um fator postulado para predispor pacientes ao desenvolvimento da hipertensão arterial (BROWNLEE et al., 2002). Define-se hipertensão arterial como pressão arterial sistólica maior

ou igual a 140 mmHg, pressão diastólica maior ou igual a 90 mmHg, ou a necessidade de utilização de medicação anti-hipertensiva (JOINT NATIONAL COMMITTEE, 2004). Além disso, há um estado de pré-hipertensão, denominada quando a pressão arterial sistólica está entre 120-139 mmHg e a diastólica entre 80-89 mmHg, que exige uma mudança no estilo de vida (como por exemplo perda de peso, dieta saudável com redução de sódio, e exercício físico) para evitar o desenvolvimento da hipertensão (JNC, 2004).

Hipertensão arterial contribui para causas que levam a morbidade e mortalidade em pacientes com diabetes, principalmente o T2DM, incluindo doença coronariana, acidente vascular cerebral, doença vascular periférica, amputação de extremidades, doença renal e retinopatia (COOPER et al., 2001; JNC, 2004). Por essas razões, hipertensão arterial e diabetes devem ser tratadas com rapidez e agressividade.

O modelo genético de hipertensão arterial espontânea em ratos, desenvolvido por Okamoto e Aoki, denominado SHR (*Spontaneously Hypertensive Rats*), é o que mais se aproxima da hipertensão essencial no homem. Os SHRs foram desenvolvidos por cruzamento genético de ratos Wistar-Kyoto, no qual se conseguiu estabelecer uma colônia de ratos que desenvolveram hipertensão espontânea em 100% dos descendentes. Os SHRs nascem normotensos, mas começam a desenvolver hipertensão arterial espontaneamente ao redor da quarta semana de vida. A pressão arterial se eleva gradualmente nas semanas seguintes atingindo níveis de hipertensão grave, que se mantém por toda a vida do animal (OKAMOTO; AOKI, 1963).

Em SHR, já foi demonstrado que a ativação simpática neuronal está aumentada em músculo esquelético e tecido adiposo subcutâneo durante todo o curso natural de vida (5, 16, 30 e 54 semanas de vida), em animais acordados e com livre movimentação (CABASSI et al., 2002). Isso mostra que além da hipertensão, esses animais possuem uma maior atividade simpática no músculo esquelético e tecido adiposo subcutâneo.

Há controvérsias quanto ao controle que deva ser usado quando se estuda a homeostase glicêmica em animais com hipertensão arterial espontânea (SHR), já que foi demonstrado que os ratos Wistar-Kyoto, assim como os SHR, possuem intolerância à glicose (KATAYAMA et al., 1997).

Alterações na expressão do gene *Slc2a4* já foram mostradas em modelos experimentais de hipertensão arterial, como SHR (KATAYAMA et al., 1997; PATERNOSTRO et al., 1995) e Milan (CAMPBELL et al., 1995). Alguns autores encontraram uma diminuição na expressão de

GLUT4 nas membranas intracclulares de músculo esquelético de animais hipertensos (CAMPBELL et al., 1995), enquanto outros autores mostraram um aumento na expressão do mRNA, sem alterar a expressão da proteína GLUT4 em músculo esquelético gastrocnêmio (KATAYAMA et al., 1997). Estes estudos indicam que a regulação do *Slc2a4/GLUT4* em modelos de hipertensão é variável.

Foi demonstrado que a insulina exerce uma ação no sistema nervoso autônomo, incluindo estimulação da atividade simpática no músculo de indivíduos saudáveis (BERNE et al., 1992), além disso, autores mostraram que indivíduos resistentes à insulina, como ocorre na hipertensão essencial e obesidade, possuem uma atividade simpática basal elevada (TENTOLOURIS; ARGYRAKOPOULOU; KATSILAMBROS, 2008). Resistência à insulina, hiperinsulinemia compensatória e ativação do sistema nervoso simpático tem sido sugeridos como sendo os principais responsáveis pela alta prevalência de hipertensão arterial em pacientes diabéticos (FRONTONI; BRACAGLIA; GIGLI, 2005).

Os efeitos do sistema nervoso simpático no metabolismo de glicose e lipídios são mediados pela concentração plasmática de adrenalina e pela inervação simpática direta no fígado, tecido adiposo e músculo esquelético (NONOGAKI, 2000). Os neurônios pós-ganglionares simpáticos liberam noradrenalina, que excita algumas células efetoras, mas inibe outras, enquanto a medula adrenal libera primordialmente adrenalina (WILLIS Jr, 2004).

Os receptores adrenérgicos são proteínas transmembrânicas com a terminação amino extracelular e a terminação carboxil intracelular, possuindo 7 regiões hidrofóbicas na membrana celular. Os receptores adrenérgicos são divididos em α_1 , (α_{1A} , α_{1B} e α_{1D}), α_2 (α_{2A} , α_{2B} e α_{2C}) e β (β_1 , β_2 , β_{3a} e β_{3b}) (GOLDFIEN, 2001; HUTCHINSON et al., 2002). Os receptores α_1 agem nas células alvo por proteína Gq, já os receptores α_2 agem por meio de proteína Gi, enquanto que os receptores β agem por meio de Gs (β_1 , β_2 e β_3) e/ou Gi (β_2 e β_3) (EVANS et al., 1999; GOSMANOV; WONG; THOMASON, 2002; LYNCH; RYALL, 2008; XIAO et al., 1999). Portanto, os receptores α_1 aumentam o 1,4,5-inositol trifosfato e diacilglicerol intracelulares, os α_2 diminuem o AMPc intracelular e os receptores β aumentam e/ou diminuem o AMPc intracelular nos tecidos alvo (GOLDFIEN, 2001).

O tecido muscular esquelético possui os 3 subtipos de receptores β -adrenérgicos (1, 2 e 3), porém apresenta predominantemente o subtipo β_2 (KIM et al., 1991). O tecido adiposo branco apresenta os 3 subtipos de receptores β -adrenérgicos, porém predominantemente o receptor β_3

(90% da população de adrenoceptores), sendo os 3 capazes de induzir a lipólise ($\beta_3 >> \beta_1 > \beta_2$) (GERMACK et al., 1997). Comparando-se os receptores β - e α -adrenérgicos, os receptores α -adrenérgicos são esparsos no músculo esquelético (RATTIGAN et al., 1986), enquanto no tecido adiposo branco está presente o receptor α_2 , e uma pequena quantidade de receptor α_1 (LAFONTAN; BERLAN, 1993).

A via de sinalização mais conhecida dos receptores β -adrenérgicos é a da proteína quinase A (PKA), que foi caracterizada em diversos tipos celulares (LYNCH; RYALL, 2008). No músculo esquelético a ativação desta via parece ser, pelo menos em parte, responsável pela resposta anabólica gerada pelo estímulo β -adrenérgico (LYNCH; RYALL, 2008). Foi demonstrado que a administração de inibidores de fosfodiesterase (gerando aumento de AMPc intracelular) reduz o catabolismo proteico no músculo esquelético de ratos, podendo envolver uma via indireta, inibindo a superprodução de TNF α em ratos sépticos; ou agindo diretamente na via da PKA (LIRA et al., 2007), dependendo do inibidor utilizado.

TNF é uma citocina produzida em grandes quantidades por macrófagos, sendo também produzido por tecido adiposo e músculo esquelético (SAGHIZADEH et al., 1995). Estudos recentes revelaram que o TNF- α não só possui um papel na regulação da inflamação, apoptose e sobrevivência celular, citotoxicidade e produção de outras citocinas (IL-1 e IL6), como também na indução da resistência à insulina induzida pela obesidade (NIETO-VAZQUEZ et al., 2008). Foi demonstrado que o TNF- α regula a expressão gênica, via NF- κ B, de genes como: adiponectina, GLUT4, IRS-1, C/EBP α , PPAR γ e perilipin em adipócitos (NIETO-VAZQUEZ et al., 2008).

A descoberta do Epac (*exchange protein activated directly by cAMP*) mostrou uma nova via de sinalização ativada pelos receptores β -adrenérgicos e AMPc, qual já foi descrita em músculo esquelético (LYNCH; RYALL, 2008). Estudos preliminares mostram que ativação do Epac potencializa a resposta celular à insulina, através da ativação da PI3K e AKT via Rap-1 (LYNCH; RYALL, 2008).

Foi demonstrado por nosso laboratório, que a atividade simpática β -adrenérgica mantém a expressão do GLUT4 no músculo glicolítico durante o jejum (ALVES-WAGNER et al., 2009), evidenciando a participação do sistema nervoso simpático na regulação do gene *Slc2a4* em músculo esquelético.

Estudos mostraram que o diabetes diminui a expressão dos receptores β_1 -adrenérgicos e aumenta dos receptores β_3 -adrenérgicos no coração, o que pode estar envolvido com o desenvolvimento de disfunção cardíaca induzida pelo diabetes, o que é revertido parcialmente com tratamento com insulina (DINÇER et al., 2001). Porém, ainda não está claro se ocorre essa modulação em músculo esquelético.

O aumento da atividade simpática e o aumento da concentração de catecolaminas circulantes estão envolvidos com a gênese e a manutenção de estados patológicos que acometem o sistema cardiovascular, entre eles a hipertensão arterial essencial (ESLER; KAYF, 2000), tanto em humano como em modelo animal (GUYENET, 2006). Por outro lado, neuropatia autonômica diabética é uma complicaçāo frequente do diabetes, ainda pouco conhecida e entendida, apesar do alto impacto negativo na sobrevivência e qualidade de vida das pessoas portadoras de diabetes (VINIK et al., 2003). A neuropatia autonômica diabética pode afetar o sistema nervoso autônomo inteiro, ou seja, as fibras simpáticas e parassimpáticas. A neuropatia autonômica é manifestada pela disfunção de um ou mais órgãos ou sistemas (VINIK et al., 2003). Complicações do sistema nervoso autonômico podem ser detectadas nos primeiros anos após o diagnóstico do diabetes, e as principais manifestações são disfunções cardiovasculares, gastrointestinais e do sistema urinário (BROWNLEE et al., 2002). Redução na tolerância ao exercício, edema, hipertensão noturna, intolerância ao calor devido a um desequilíbrio na termorregulação, são consequências da neuropatia autonômica (BROWNLEE et al., 2002). A neuropatia autonômica diabética pode ser a precursora da morte precoce, que ocorre numa larga proporção de pacientes afetados (CRYER, 1986).

A neuropatia autonômica, assim como outras complicações que ocorrem no diabetes, provavelmente depende da manutenção de alta glicemia por um longo período de tempo (VINIK et al., 2003).

Já foi demonstrado que ratos hipertensos (PATERNOSTRO et al., 1995) e ratos diabéticos (CAMPIS et al., 1992) possuem alterações na expressão do *Slc2a4/GLUT4*, mas não se estudou o efeito da associação diabetes hipertensão arterial. Também já se observou que o sistema β -adrenérgico atua na expressão do GLUT4 durante o jejum (ALVES-WAGNER et al., 2009), o que poderia participar dos efeitos do diabetes e/ou hipertensão. Por isto, neste trabalho investigamos se a hiperatividade simpática, como é o caso do SHR, regula a expressão do GLUT4 no diabetes. Além disso, sendo o propranolol um bloqueador β -adrenérgico utilizado na

prática clínica, é importante investigar seus efeitos sobre a homeostasia glicêmica, sobretudo quando diabetes/neuropatia estiverem associados.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que animais SHR, conhecidos por sua alta atividade simpática, aumentam a expressão de *Slc2a4/GLUT4*, principalmente em músculo glicolítico. Por outro lado, animais diabéticos Wistar e SHR diminuem a expressão de *Slc2a4/GLUT4*. O tratamento com propranolol reforçou o efeito estimulador β -adrenérgico em sóleo de animais normotensos. O *Tnfa* parece ter participação nas regulações induzidas pelo diabetes, assim como nos efeitos do propranolol sobre a proteína GLUT4 em sóleo de animais SHR. Embora tenha ficado claro que o sistema adrenérgico regule a expressão do gene *Slc2a4*, os mecanismos transcricionais envolvidos ainda são completamente desconhecidos, merecendo estudos futuros.

Considerando a importância do GLUT4 na homeostasia glicêmica, o presente estudo também sugere que a neuropatia autonômica possa piorar a homeostase glicêmica, por induzir uma maior redução na expressão de GLUT4. Portanto, o desenvolvimento de drogas que possam ativar especificamente a via simpática em músculo esquelético poderia contribuir para melhorar a homeostase glicêmica em indivíduos portadores de diabetes mellitus.

REFERÊNCIAS*

- AIELLO, E. A.; VILLA-ABRILLE, M. C.; ESCUDERO, E. M.; PORTIANSKY, E. L.; PÉREZ, N. G.; HURTADO, M. C. C.; CINGOLANI, H. E. Myocardial hypertrophy of normotensive Wistar-Kyoto rats. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 286, n. 4, p. H1229-H1235, 2004.
- ALVES-WAGNER, A. B. T.; FREITAS, H. S.; SOUZA, P. B.; SERAPHIM, P. M.; MORI, R. C. T.; MACHADO, U. F. β -adrenergic activity preserves GLUT4 protein in glycolytic fibers in fasting. **Muscle Nerve**, v. 40, n. 5, p. 847-854, 2009.
- ATRAKCHI, A.; CARLSEN, R. C.; GRAY, S. D.; MICHEL, A.; HANCE, A. J. Beta-receptor properties in soleus muscles from spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 14, n. 1, p. 54-60, 1989.
- BARON, A. D.; BRECHTEL, G.; WALLACE, P.; EDELMAN, S. V. Rates and tissues sites of non-insulin and insulin-mediate glucose uptake in humans. **Am. J. Physiol.**, v. 255, n. 6 Pt 1, p. E769-E774, 1988.
- BERGER, J.; BISWAS, C.; VICARIO, P. P.; STROUT, H. V.; SAPERSTEIN, R.; PILCH, P. F. Decreased expression of the insulin-responsive glucose transporter in diabetes and fasting. **Nature**, v. 340, n. 6228, p. 70-72, 1989.
- BERNE, C.; FAGIUS, J.; POLLARE, T.; HJEMDAHL, P. The sympathetic response to euglycaemic hyperinsulinaemia. Evidence from microelectrode nerve recordings in healthy subjects. **Diabetologia**, v. 35, n. 9, p. 873-879, 1992.
- BROWNLEE, M.; AIELLO, L. P.; FRIEDMAN, E.; VINIK, A. I.; NESTO, R. W.; BOULTON, A. J. M. Complications of Diabetes Mellitus. In: LARSEN, P. R.; KRONENBERG, H. M.; MELMED, S.; POLONSKY, K. S. **Williams Textbook of Endocrinology**. 10th ed. Pensilvania: Elsevier Science, 2002. p.1553, 1558.
- CABASSI, A.; VINCI, S.; CANTONI, A. M.; QUARTIERI, F.; MOSCHINI, L.; CAVAZZINI, S.; CAVATORTA, A.; BORGHETTI, A. Sympathetic activation in adipose tissue and skeletal muscle of hypertensive rats. **Hypertension**, v. 39, n. 2 Pt 2, p. 656-661, 2002.
- CABASSI, A.; VINCI, S.; QUARTIERI, F.; MOSCHINI, L.; BORGHETTI, A. Norepinephrine reuptake is impaired in skeletal muscle of hypertensive rats *in vivo*. **Hypertension**, v. 37, n. 2 Pt 2, p. 698-702, 2001.
- CAMPBELL, I. W.; DOMINICZAK, A. F.; LIVINGSTONE, C.; GOULD, G. W. Analysis of glucose transporter compliment of metabolically important tissues from the Milan hypertensive rat. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 211, n. 3, p. 780-791, 1995.

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

- CAMPS, M.; CASTELLÓ, A.; MUNÓZ, P.; MONFAR, M.; TESTAR, X.; PALACIN, M.; ZORZANO, A. Effect of diabetes and fasting on GLUT4 (muscle/fat) glucose transporter expression in insulin-sensitive tissues. Heterogeneous response in heart, red and white muscle. *Biochem. J.*, v. 282, n. Pt 3, p. 765-772, 1992.
- CHEN, W. Q.; CAI, H.; ZHANG, C.; JI, X. P.; ZHANG, Y. Is overall blockade superior to selective blockade of adrenergic receptor subtypes in suppressing left ventricular remodeling in spontaneously hypertensive rats? *Hypertens. Res.*, v. 33, n. 10, p. 1071-1081, 2010.
- CHROMY, V.; GERGERL, J.; VOZNOCEK, J.; KROMBOLZOVA, L.; MUSIL, J. Assay for serum free fatty acids by extraction-photometric procedure. *Clin. Chim. Acta.*, v. 80, n. 2, p. 327-332, 1977.
- CHIAPPE DE CINGOLANI, G. E.; CALDIZ, C. I. Insulin resistance and GLUT-4 glucose transporter in adipocytes from hypertensive rats. *Metabolism.*, v. 53, n. 3, p. 382-387, 2004.
- COOPER, M. E.; BONNET, F.; OLDFIELD, M.; JANDELEIT-DAHM, K. Mechanisms of diabetic vasculopathy: an overview. *Am. J. Hypertens.*, v. 14, n. 5 Pt 1, p. 475-486, 2001.
- CRYER, P. E. The metabolic impact of autonomic neuropathy in insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Arch. Intern. Med.*, v. 146, n. 11, p. 2127-2129, 1986.
- DAVIS, L. G.; KUEHL, W. M.; BATTEY, J. F. **Basic methods in molecular biology**. New York: Plenum Press, 1994.
- DEIBERT, D. C.; DEFRONZO, R. A. Epinephrine-induced insulin resistance in man. *J. Clin. Invest.*, v. 65, n. 3, p. 717-721, 1980.
- DIMITRAKOUDIS, D.; RAMLAL, T.; RASTOGI, S.; VRANIC, M.; KLIP, A. Glycaemia regulates the glucose transporter number in the plasma membrane of rat skeletal muscle. *Biochem. J.*, v. 284, n. Pt 2, p. 341-348, 1992.
- DINÇER, Ü. D.; BIDASEE, K. R.; GÜNER, S.; TAY, A.; OZÇELIKAY, A. T.; ALTAN, V. M. The effect of diabetes on expression of beta1-, beta2-, and beta3-adrenoreceptors in rat hearts. *Diabetes*, v. 50, n. 2, p. 455-461, 2001.
- ELAYAN, H.; KENNEDY, B.; ZIEGLER, M. G. Propranolol reduces rat dopamine-beta-hydroxilase activity and catecholamine levels. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 212, n. 2-3, p. 259-262, 1992.
- ESLER, M.; KAYE, D. Sympathetic nervous system activation in essential hypertension, cardiac failure and psychosomatic heart disease. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, v. 35, n. 7, s. 4, p. S1-S7, 2000.

- EVANS, B. A.; PAPAOANNOU, M.; HAMILTON, S.; SUMMERS, R. J. Alternative splicing generates two isoforms of the beta3-adrenoceptor which are differentially expressed in mouse tissues. *Br. J. Pharmacol.*, v. 127, n. 6, p. 1525-1531, 1999.
- FELL, R. D.; LIZZO, F. H.; CERVONI, P.; CRANDALL, D. L.; Effect of contractile activity on rat skeletal muscle beta-adrenoceptor properties. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v. 180, n. 3, p. 527-532, 1985.
- FERRARI, P.; WEIDMANN, P. Insulin, insulin sensitivity and hypertension. *J. Hypertens.*, v. 8, n. 6, p. 491-500, 1990.
- FLIERS, E.; KREIER, F.; VOSHOL, P. J.; HAVEKES, L. M.; SAUERWEIN, H. P.; KALSBECK, A.; BUIJS, R. M.; ROMIJN, J. A. White adipose tissue: getting nervous. *J. Neuroendocrinology*, v. 15, n. 11, p. 1005-1010, 2003. Review.
- FREITAS, H. S.; SCHAAAN, B. D. A.; SERAPHIM, P. M.; NUNES, M. T.; MACHADO U. F. Acute and short-term insulin-induced molecular adaptations of GLUT2 gene expression in the renal cortex of diabetics rats. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v. 237, n. 1-2, p. 49-57, 2005.
- FRONTONI, S.; BRACAGLIA, D.; GIGLI, F. Relationship between autonomic dysfunction, insulin resistance and hypertension, in diabetes. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, v. 15, n. 6, p. 441-449, 2005.
- GARFIN, D. E. One-dimensional gel electrophoresis. *Methods Enzymol.*, v. 182, p. 425-441, 1990.
- GERMACK, R.; STARZEC, A. B.; VASSY, R.; PERRET, G. Y. β -Adrenoceptor subtype expression and function in rat white adipocytes. *Br. J. Pharmacol.*, v. 120, n. 2, p. 201-210, 1997.
- GOLDFIEN, A. Adrenal Medulla. In: GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. **Basic & Clinical Endocrinology**. 6th ed. USA: The McGraw Hill Companies, 2001. p. 405-406.
- GOSMANOV, A. R.; WONG, J. A.; THOMASON, D. B. Duality of G protein-coupled mechanisms for beta-adrenergic activation of NKCC activity in skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, v. 283, n. 4, p. C1025-C1032, 2002.
- GUYNET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. *Nat. Rev. Neurosci.*, v. 7, n. 5, p. 335-346, 2006.
- HAGSTRÖM-TOFT, E.; ENOKSSON, S.; MOBERG, E.; BOLINDER, J.; ARNER, P. beta-Adrenergic regulation of lipolysis and blood flow in human skeletal muscle in vivo. *Am. J. Physiol.*, v. 275, n. 6 Pt 1, p. E909-E916, 1998.
- HAN, X. X.; BONEN, A. Epinephrine translocates GLUT-4 but inhibits insulin-stimulated glucose transport in rat muscle. *Am. J. Physiol.*, v. 274, n. 4 Pt 1, p. E700-E707, 1998.

HUPFELD, C. J.; DALLE, S.; OLEFSKY, J. L. Beta -Arrestin 1 down-regulation after insulin treatment is associated with supersensitization of beta 2 adrenergic receptor Galpha s signaling in 3T3-L1 adipocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 100, n. 1, p. 161-166, 2003.

HUTCHINSON, D. S.; BENGTSSON, T.; EVANS, B. A.; SUMMERS, R. J. Mouse beta 3a- and beta 3b-adrenoceptors expressed in Chinese hamster ovary cells display identical pharmacology but utilize distinct signaling pathways. **Br. J. Pharmacol.**, v. 135, n. 8, p. 1903-1914, 2002.

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, n. 5 Pt 1, p. E567-E574, 1985.

JOINT NATIONAL COMMITTEE ON PREVENTION, DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE. The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7). **National Institutes of Health Publication**, N° 04-5230. 2004.

KATAYAMA, S.; INABA, M.; MARUNO, Y.; MORITA, T.; AWATA, T.; OKA, Y. Glucose intolerance in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats: enhanced gene expression and synthesis of skeletal muscle glucose transporter 4. **Hypertens. Res.**, v. 20, n. 4, p. 279-286, 1997.

KERN, M.; WELLS, J. A.; STEPHENS, J. M.; ELTON, C. W.; FRIEDMAN, J. E.; TAPSCOTT, E. B.; PEKALA, P. H.; DOHM, G. L. Insulin responsiveness in skeletal muscle is determined by glucose transporter (GLUT4) protein level. **Biochem. J.**, v. 270, n. 2, p. 397-400, 1990.

KIM, Y. S.; SAINZ, R. D.; MOLENAAR, P.; SUMMERS, R. J. Characterization of β_1 - and β_2 -adrenoceptors in rat skeletal muscles. **Biochem. Pharmacol.**, v. 42, n. 9, p. 1783-1789, 1991.

KIMURA, H.; MIYAMOTO, A.; OHSHIKA, H. Down regulation of beta-adrenoceptors and loss of Gs alpha subunits levels in ventricular myocardium of rats treated with isoproterenol. **Life Sci.**, v. 53, n. 10, p. PL171-PL176, 1993.

KRSSAK, M.; FALK PETERSEN, K.; DRESNER, A.; DIPIETRO, L.; VOGEL, S. M.; ROTHMAN, D. L.; RODEN, M.; SHULMAN, G. I. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ^1H NMR spectroscopy study. **Diabetologia**, v. 42, n. 1, p. 113-116, 1999.

KUBOTA, T.; YAMADA, T. Alterations in vascular sensitivity to vasoactive agents after discontinuation of propranolol in SHR. **Hypertension.**, v. 6, n. 2 Pt 1, p. 249-254, 1984.

LAFONTAN, M.; BERLAN, M. Fat cell adrenergic receptors and the control of white and brown fat cell function. **J. Lipid. Res.**, v. 34, n. 7, p. 1057-1091, 1993. Review.

- LANG, C. H. Beta-adrenergic blockade attenuates insulin resistance induced by tumor necrosis factor. **Am. J. Physiol.**, v. 264, n. 5 Pt 2, p. R984-R991, 1993.
- LANG, C. H.; NYSTROM, G.; FROST, R. A. Beta-adrenergic blockage exacerbates sepsis-induced changes in tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in skeletal muscle and is associated with impaired translation initiation. **J. Trauma**, v. 64, n. 2, p. 477-486, 2008.
- LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, v. 51, p. 216-226, 2008. Review.
- LEVY, M. N. Circulações especiais. In: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPFEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p. 446.
- LI, Y. P.; SCHWARTZ, R. J.; WADDELL, I. D.; HOLLOWAY, B. R.; REID, M. B. Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF-κB activation in response to tumor necrosis factor alpha. **FASEB.**, v. 12, n. 10, p. 871-880, 1998.
- LIRA, E. C.; GRAÇA, F. A.; GONÇALVES, D. A. P.; ZANON, N. M.; BAVIERA, A. M.; STRINDBERG, L.; LONNROTH, P.; MIGLIORINI, R. H.; KETTELHUT, I. C.; NAVEGANTE, L. C. C. Cyclic adenosine monophosphate-phosphodiesterase inhibitors reduce skeletal muscle protein catabolism in septic rats. **Shock**, v. 27, n. 6, p. 687-694, 2007.
- LOWRY, O. H.; ROSEMBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDAL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.
- LYNCH, G. S.; RYALL, J. G. Role of beta-adrenoceptor signaling in skeletal muscle: implications for muscle wasting and disease. **Physiol. Rev.**, v. 88, n. 2, p. 729-767, 2008. Review.
- MACHADO, U. F.; SHIMIZY, Y.; SAITO, M. Decreased glucose transporter (GLUT4) content in insulin-sensitive tissues of obese aurothioglucose- and monosodium glutamate-treated mice. **Horm. Metab. Res.**, v. 25, n. 9, p. 462-465, 1993.
- MASHARANI, U.; KARAM, J. H. Pancreatic Hormones & Diabetes Mellitus. In: GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. **Basic & Clinical Endocrinology**. 6th ed. USA: The McGraw Hill Companies, 2001. p. 633.
- MORA, S.; PESSIN, J. E. The MEF2A isoform is required for striated muscle-specific expression of the insulin-responsive GLUT4 glucose transporter. **J. Biol. Chem.**, v. 275, n. 21, p. 16323-16328, 2000.
- NAPOLI, R.; HIRSHMAN, M. F.; HORTON, E. S. Mechanisms and time course of impaired skeletal muscle glucose transport activity in streptozocin diabetic rats. **J. Clin. Invest.**, v. 96, n. 1, p. 427-437, 1995.

NIETO-VAZQUEZ, I.; FERNANDEZ-VELEDO, S.; KRAMER, D. K.; VILA-BEDMAR, R.; GARCIA-GUERRA, L.; LORENZO, M. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem.*, v. 114, n. 3, p. 183-194, 2008. Review.

NONOGAKI, K. New insights into sympathetic regulation of glucose and fat metabolism. *Diabetologia*, v. 43, n. 5, p. 533-549, 2000.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.*, v. 27, p. 282-293, 1963.

OKAMOTO, M. M.; ANHÊ, G. F.; SABINO-SILVA, R.; MARQUES, M. F. S. F.; FREITAS, H. S.; MORI, R. C. T.; MELO, K. F. S.; MACHADO, U. F. Intensive insulin treatment induces insulin resistance in diabetic rats by impairing glucose metabolism-related mechanisms in muscle and liver. *J. Endocrinol.*, v. 211, n. 1, p. 55-64, 2011.

PAN, D. A.; LILLIOJA, S.; KRIKETOS, A. D.; MILNER, M. R.; BAUR, L. A.; BOGARDUS, C.; JENKINS, A. B.; STORLIEN, L. H. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes*, v. 46, n. 6, p. 983-988, 1997.

PATERNOSTRO, G.; CLARKE, K.; HEATH, J.; SEYMOUR, A. M.; RADDA, G. K. Decreased GLUT-4 mRNA content and insulin-sensitive deoxyglucose uptake show insulin resistance in the hypertensive rat heart. *Cardiovasc. Res.*, v. 30, n. 2, p. 205-211, 1995.

PERSEGHIN, G.; GHOSH, S.; GEROW, K.; SHULMAN, G. I. Metabolic defects in lean nondiabetic offspring of NIDDM parents: a cross-sectional study. *Diabetes*, v. 46, n. 6, p. 1001-1009, 1997.

PLOMGAARD, P.; BOUZAKRI, K.; KROGH-MADSEN, R.; MITTENDORFER, B.; ZIERATH, J. R.; PEDERSEN, B. K. Tumor necrosis factor-alpha induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects via inhibition on Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes*, v. 54, n. 10, p. 2939-2945, 2005.

RATTIGAN, S.; APPLEBY, G. J.; EDWARDS, S. J.; MCKINSTRY, W. J.; COLQUHOUN, E. Q.; CLARK, M. G.; RICHTER, E. A. Alpha-adrenergic receptors in rat skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 136, n. 3, p. 1071-1077, 1986.

REAVEN, G. M.; CHANG, H.; HOFFMAN, B. B.; AZHAR, S. Resistance to insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes isolated from spontaneously hypertensive rats. *Diabetes*, v. 38, n. 9, p. 1155-1160, 1989.

RICHARDSON, J. M.; BALON, T. W.; TREADWAY, J. L.; PESSIN, J. E. Differential regulation of glucose transporter activity and expression in red and white skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, v. 266, n. 19, p. 12690-12694, 1991.

- RODRÍGUEZ, A.; CATALÁN, V.; BECERRIL, S.; GIL, M. J.; MUQUETA, C.; GÓMEZ-AMBROSI, J.; FRÜHBECK, G. Impaired adiponectin-AMPK signalling in insulin-sensitive tissues of hypertensive rats. *Life Sci.*, v. 83, n. 15-16, p. 540-549, 2008.
- SABINO-SILVA, R.; ALVES-WAGNER, A. B. T.; BURGI, K.; OKAMOTO, M. M.; ALVES, A. S.; LIMA, G. A.; FREITAS, H. S.; ANTUNES, V. R.; MACHADO, U. F. SGLT1 protein expression in plasma membrane of acinar cells correlates with the sympathetic outflow to salivary glands in diabetic and hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, v. 299, n. 6, p. E1028-E1037, 2010.
- SAGHIZADEH, M.; ONG, J. M.; GARVEY, W. T.; HENRY, R. R.; KERN, P. A. The expression of TNF α by human muscle. Relationship to insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, v. 97, n. 4, p. 1111-1116, 1996.
- SALANS, L. B.; ZARNOWSKI, M. J.; SEGAL, R. Effect of insulin upon the cellular character of rat adipose tissue. *J. Lipid. Res.*, v. 13, n. 5, p. 616-623, 1972.
- SAMUEL, V. T.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *Lancet*, v. 375, n. 9733, p. 2267-2277, 2010. Review.
- SCARPINI, E.; BIANCHI, R.; MOGGIO, M.; SCIACCO, M.; FIORI, M. G.; SCARLATO, G. Decrease of nerve Na $^+$, K(+)-ATPase activity in the pathogenesis of human diabetic neuropathy. *J. Neurol. Sci.*, v. 120, n. 2, p. 159-167, 1993.
- SERAPHIM, P. M.; NUNES, M. T.; GIANNOCO, G.; MACHADO, U. F. Age related obesity-induced shortening of GLUT4 mRNA poly(A) tail length in rat gastrocnemius skeletal muscle. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v. 276, n. 1-2, p. 80-87, 2007.
- SHEPHERD, P. R.; KAHN, B. B. Glucose transporters and insulin action: implications for insulin resistance and Diabetes Mellitus. *N. Engl. J. Med.*, v. 341, n. 4, p. 248-257, 1999.
- SHULMAN, G. I. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, v. 106, n. 2, p. 171-176, 2000. Review.
- 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-kappaB, MEF2A, MEF2D and HIF-a involvement on insulin- and contraction-induced regulation of GLUT4 gene expression in soleus muscle. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v. 240, n. 1-2, p. 82-93, 2005.
- SIVITZ, W. I.; DESAUTEL, S. L.; KAYANO, T.; BELL, G. I.; PESSIN, J. E. Regulation of glucose transporter messenger RNA in insulin-deficient states. *Nature*, v. 340, n. 6228, p. 72-74, 1989.
- SIVITZ, W. I.; DESAUTEL, S. L.; LEE, E. C.; PESSIN, J. E. Time-dependent regulation of rat adipose tissue glucose transporter (GLUT4) mRNA and protein by insulin in streptozocin-diabetic and normal rats. *Metabolism*, v. 41, n. 11, p. 1267-1272, 1992.

- SMITS, J. F.; STRUYKER-BOUDIER, H. A. The mechanisms of antihypertensive action of beta-adrenergic receptor blocking drugs. **Clin. Exp. Hypertens. A.**, v. 4, n. 1-2, p. 71-86, 1982.
- STEPHENS, J. M.; PEKALA, P. H. Transcriptional repression of the GLUT4 and C/EBP genes in 3T3-L1 adipocytes by tumor necrosis factor-alpha. **J. Biol. Chem.**, v. 266, n. 32, p. 21829-21845, 1991.
- STRALFORS, P.; BJORGELL, P.; BELFRAGE, P. Hormonal regulation of hormone-sensitive lipase in intact adipocytes: Identification of phosphorylated sites and effects on the phosphorylation by lipolytic hormones and insulin. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 81, n. 11, p. 3317-3321, 1984.
- SZTALRYD, C.; KRAEMER, F. B. Regulation of hormone-sensitive lipase in streptozotocin-induced diabetic rats. **Metabolism**, v. 44, n. 11, p. 1391-1396, 1995.
- TAKEDA, K.; BUÑAG, R. D. Chronic propranolol treatment inhibits sympathetic nerve activity and keeps blood pressure from rising in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 2, n. 2, p. 228-235, 1980.
- TAKEDA, K.; NAKAGAWA, Y.; HASHIMOTO, T.; SAKURAI, H.; IMAI, S. Effects of several beta-blocking agents on the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 29, n. 2, p. 171-178, 1979.
- TENTOLOURIS, N.; ARGYRAKOPOLOU, G.; KATSILAMBROS, N. Perturbed autonomic nervous system function in metabolic syndrome. **Neuromol. Med.**, v. 10, n. 3, p. 169-178, 2008. Review.
- THORENS, B.; CHARRON, M. J.; LODISH, H. F. Molecular physiology of glucose transporter. **Diabetes Care**, v. 13, n. 3, p. 209-218, 1990. Review.
- TIMMONS, T. M.; DUNBAR, B. Protein blotting and immunodetection. **Methods Enzymol.**, v. 182, p. 679-688, 1990.
- TOWBIN, H.; STAHELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some implications. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 76, n. 9, p. 4350-4354, 1979.
- VINIK, A. I.; MASER, R. E.; MITCHELL, B. D.; FREEMAN, R. Diabetic Autonomic Neuropathy. **Diabetes Care**, v. 26, n. 5, p. 1553-1579, 2003.
- WATRAS, J. Fisiología do músculo esquelético. In: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPFEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiología**. 5^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p. 244.
- WATSON-WRIGHT, M. W.; WILKINSON, M. The muscle slice – a new preparation for the characterization of beta-adrenergic binding in fast- and slow-twitch skeletal muscle. **Muscle Nerve**, v. 9, n. 5, p. 416-422, 1986.

- WHITE, B. A. Regulação hormonal do metabolismo energético. In: KOEPFEN, B. M.; STANTON, B. A. **Berne & Levy Fisiologia**. 6^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p. 690-691.
- WILLIAMS, R. S.; CARON, M. G.; DANIEL, K. Skeletal muscle beta-adrenergic receptors: variations due to fiber type and training. **Am. J. Physiol.**, v. 246, n. 2 Pt 1, p. E160-E167, 1984.
- WILLIS Jr, W.D. O Sistema Nervoso. In: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPFEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p. 220.
- XIAO, R. P.; AVDONIN, P.; ZHOU, Y. Y.; CHENG, H.; AKHTER, S. A.; ESCHENHAGEN, T.; LEFKOWITZ, R. J.; KOCH, W. J.; LAKATTA, E. G. Coupling of beta2-adrenoceptor to Gi proteins and its physiological relevance in murine cardiac myocytes. **Circ. Res.**, v. 84, n. 1, p. 43-52, 1999.
- YOSHIDA, T.; NISHIOKA, H.; NAKAMURA, Y.; KONDO, M. Reduced noradrenaline turnover in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetologia**, v. 28, n. 9, p. 692-696, 1985.
- ZECCHIN, H. G.; BEZERRA, R. M.; CARVALHEIRA, J. B.; CARVALHO-FILHO, M. A.; METZE, K.; FRANCHINI, K. G.; SAAD, M. J. Insulin signaling pathways in aorta and muscle from two animal models of insulin resistance—the obese middle-aged and the spontaneously hypertensive rats. **Diabetologia**, v. 46, n. 4, p. 479-491, 2003.
- ZHANG, J.; WU, W.; LI, D.; GUO, Y.; DING, H. Overactivation of NF-κB impairs insulin sensitivity and mediates palmitate-induced insulin resistance in C2C12 skeletal muscle cells. **Endocrine**, v. 37, n. 1, p. 157-166, 2010.