

*Miriam H. Fonseca-Alaniz
Julie Takada
Maria Isabel C. Alonso-Vale
Fabio Bessa Lima*

*Departamento de Fisiologia e
Biofísica, Instituto de Ciências
Biomédicas, Universidade de São
Paulo, São Paulo, SP.*

*Recebido em 30/10/05
Aceito em 17/01/06*

RESUMO

Os avanços da pesquisa sobre as propriedades metabólicas do tecido adiposo e as recentes descobertas sobre sua capacidade em produzir hormônios atuantes em processos fisiológicos e fisiopatológicos, estão revolucionando conceitos sobre a sua biologia. O seu envolvimento em processos como obesidade, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, arteriosclerose, dislipidemias, processos inflamatórios agudos e crônicos, entre outros, indicam que a compreensão das suas propriedades funcionais contribuirão para melhorar o prognóstico daquelas doenças, cuja prevalência vem crescendo de forma preocupante. Nesta revisão, abordamos aspectos funcionais dos adipócitos, como o metabolismo, a participação na homeostase energética, a sua habilidade endócrina e a adipogênese, entendida como a capacidade de pré-adipócitos, presentes no parênquima do tecido, de se diferenciarem em novos adipócitos e reconstituírem o tecido. Além disso, estamos incluindo estudos sobre as relações entre o tecido adiposo e a glândula pineal, aspecto novo e pouco conhecido, mas, como será visto, muito promissor da fisiologia do adipócito com possíveis repercussões favoráveis para a terapêutica das moléstias relacionadas com a obesidade. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2006;50/2:216-229**)

Descritores: Adipócito; Lipogênese; Lipólise; Adipocinas; Adipogênese

ABSTRACT

The Adipose Tissue as a Regulatory Center of the Metabolism.

The recent progress in the research about the metabolic properties of the adipose tissue and the discovery of its ability to produce hormones that are very active in pathophysiologic as well as physiologic processes is rebuilding the concepts about its biology. Its involvement in conditions like obesity, type 2 diabetes mellitus, arterial hypertension, arteriosclerosis, dislipidemias and chronic and acute inflammatory processes indicate that the understanding of its functional capacities may contribute to improve the prognosis of those diseases whose prevalence increased in a preoccupying manner. Here we review some functional aspects of adipocytes, such as the metabolism, its influence on energy homeostasis, its endocrine ability and the adipogenesis, i.e., the potential of pre-adipocytes present in adipose tissue stroma to differentiate into new adipocytes and regenerate the tissue. In addition, we are including some studies on the relationship between the adipose tissue and the pineal gland, a new and poorly known, although, as will be seen, very promising aspect of adipocyte physiology together with its possible favorable repercussions to the therapy of the obesity related diseases. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2006;50/2:216-229**)

Keywords: Adipocyte; Lipogenesis; Lipolysis; Adipokines; Adipogenesis

PARA GARANTIR A SOBREVIVÊNCIA de todas as espécies, mesmo em condições de escassez de nutrientes no meio ambiente, os mamíferos são capazes de estocar o excesso de calorias consumidas e não requisitadas para suprir suas necessidades metabólicas imediatas, como lipídios (triacilgliceróis), proteínas e carboidratos (glicogênio). Os lipídeos, por serem hidrofóbicos, podem ser armazenados em grandes quantidades dispensando a participação da água como solvente, e contêm, por unidade de massa, mais do que o dobro de energia armazenada que os outros dois componentes, fornecendo mais energia metabólica quando oxidados.

O tecido adiposo é o principal reservatório energético do organismo. Os adipócitos são as únicas células especializadas no armazenamento de lipídios na forma de triacilglicerol (TAG) em seu citoplasma, sem que isto seja nocivo para sua integridade funcional. Essas células possuem todas as enzimas e proteínas reguladoras necessárias para sintetizar ácidos graxos (lipogênese) e estocar TAG em períodos em que a oferta de energia é abundante, e para mobilizá-los pela lipólise quando há déficit calórico. A regulação desses processos ocorre por meio de nutrientes e sinais aferentes dos tradicionais sistemas neurais e hormonais, e depende das necessidades energéticas do indivíduo (1).

O sistema nervoso autônomo tem controle direto sobre o tecido adiposo através de seus componentes simpático e parassimpático. A inervação simpática relaciona-se principalmente com as ações catabólicas, tais como a lipólise mediada pelos receptores β -adrenérgicos e dependente da atividade da enzima lipase hormônio-sensível (LHS) (2). Por outro lado, o sistema nervoso parassimpático está envolvido na execução de efeitos anabólicos sobre os depósitos adiposos, como a captação de glicose e de ácidos graxos estimulada pela insulina (3).

Nos mamíferos, existem dois tipos de tecido adiposo: o branco (TAB) e o marrom (TAM). O adipócito branco maduro armazena os TAG em uma única e grande gota lipídica que ocupa de 85-90% do citoplasma e empurra o núcleo e uma fina camada de citosol para a periferia da célula. É interessante ressaltar que, durante seu desenvolvimento, a célula jovem contém múltiplas gotículas de lipídios, que coalescem para formar uma inclusão lipídica unitária com o amadurecimento celular. Os adipócitos brancos maduros são células grandes, muitas vezes maiores que hemáceas, fibroblastos e células do sistema imune, e podem alterar acentuadamente seu tamanho (volume e diâmetro) conforme a quantidade de TAG acumulada. A proporção de lipídios no TAB pode ocupar até 85% da

massa total do tecido, sendo o restante da massa representado por água e proteínas (4).

O TAM é especializado na produção de calor (termogênese) e, portanto, participa ativamente na regulação da temperatura corporal. Os depósitos de TAM estão praticamente ausentes em humanos adultos, mas são encontrados em fetos e recém-nascidos. O adipócito marrom pode atingir 60 μ m de diâmetro, sendo, geralmente, muito menor que o adipócito branco que tem um tamanho médio de 90-100 μ m. É uma célula caracterizada pela presença de várias gotículas lipídicas citoplasmáticas de diferentes tamanhos, citoplasma relativamente abundante e núcleo esférico e ligeiramente excêntrico. Apresenta um grande número de mitocôndrias que, por não possuírem o complexo enzimático necessário para a síntese de ATP, utilizam a energia liberada pela oxidação de metabólitos, principalmente ácidos graxos, para gerar calor (5). Esse processo ocorre porque a proteína desacopladora-1 (UCP-1, termogenina), uma proteína da membrana mitocondrial interna do adipócito marrom, atua como um canal de próton que descarrega a energia gerada pelo acúmulo de prótons no espaço intermembranoso das mitocôndrias durante as reações oxidativas do ciclo de Krebs, desviando esses prótons do complexo F_1F_0 (ATP sintase) e impedindo a síntese de ATP, permitindo que se dissipe em calor a energia estocada na mitocôndria (5). A alta concentração de citocromo oxidase dessas mitocôndrias contribui para a coloração mais escurecida das células e do tecido (6).

Além dos adipócitos, o tecido adiposo contém uma matriz de tecido conjuntivo (fibras colágenas e reticulares), tecido nervoso, células do estroma vascular, nódulos linfáticos, células imunes (leucócitos, macrófagos), fibroblastos e pré-adipócitos (células adiposas indiferenciadas) (1).

TECIDO ADIPOSEO BRANCO

Este tecido, ao contrário do TAM, apresenta funções mais abrangentes. Por constituir depósitos localizados em diversas regiões do organismo envolvendo, ou mesmo se infiltrando em, órgãos e estruturas internas, o TAB oferece proteção mecânica contra choques e traumatismos externos, permite um adequado deslizamento entre vísceras e feixes musculares, sem comprometer a integridade e funcionalidade dos mesmos. Além disso, pela distribuição mais abrangente, incluindo derme e tecido subcutâneo, e por ser um excelente isolante térmico, tem papel importante na manutenção da temperatura corporal. Outra função, mencionada

anteriormente, refere-se a sua capacidade de armazenar energia com necessidade de pouca água, fornecendo mais calorias por grama em comparação ao carboidrato (9 kcal.g^{-1} vs. 4 kcal.g^{-1}), o que dá ao TAB o status de importante sistema tamponante para o balanço energético.

Em decorrência de estudos mais recentes (últimos 10–15 anos), com a descoberta da propriedade do TAB de secretar substâncias com importantes efeitos biológicos, grande importância foi atribuída ao seu papel endócrino. Com a descoberta de uma ampla gama de proteínas secretadas pelo TAB, denominadas adipocinas, um novo conceito sobre a função biológica deste tecido vem surgindo, consolidando a idéia de este tecido ser não apenas um fornecedor e armazenador de energia, mas sim, um órgão dinâmico envolvido em uma variedade de processos metabólicos e fisiológicos.

A estrutura protéica, assim como a função fisiológica das adipocinas identificadas até o momento, é altamente variada e compreende proteínas relacionadas ao sistema imune, como as citocinas clássicas – fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6), fatores de crescimento (fator transformador de crescimento β – TGF- β) e proteínas da via complemento alternativa (adipsina). Outras adipocinas estão envolvidas na regulação da pressão sanguínea (angiotensinogênio), homeostase vascular (inibidor do ativador de plasminogênio 1 – PAI-1), homeostase glicêmica (adiponectina) e angiogênese (fator de crescimento endotelial vascular – VEGF) (7) (tabela 1).

Entretanto, a adipocina que tem chamado atenção em especial é a leptina, um hormônio descoberto em 1994, produto do gene *ob* do camundongo obeso (*ob/ob*) (8). Este camundongo apresenta comportamento e fisiologia de animais em um estado constante de jejum, com níveis séricos de corticosterona elevados, incapazes de se manterem aquecidos, com comprometimento no crescimento, reprodução e alterado limiar de apetite, o que gera a obesidade característica com distúrbios metabólicos similares àqueles de animais diabéticos resistentes à insulina.

A leptina é codificada por um gene que tem três exons e dois introns. A região promotora tem sítios de ligação como TATA Box, e elementos responsivos a C/EBPs (proteínas ligadoras ao amplificador CCAAT – CCAAT/enhancer binding protein), GRE (elemento responsivo a glicocorticóides) e CREB (proteína ligadora ao elemento responsivo ao AMPc). A transcrição e tradução ocorrem no tecido adiposo, placenta e trato gastrointestinal, onde a razão de produção é diretamente relacionada à massa de tecido adiposo. Os níveis de lep-

tina circulantes parecem estar diretamente relacionados com a quantidade de seu RNAm no tecido adiposo. Outros fatores metabólicos e endócrinos também contribuem para a regulação de sua transcrição. A insulina apresenta relação diretamente proporcional com os níveis de leptina. Glicocorticóides, estrógenos, citocinas inflamatórias e quadros de infecção aguda aumentam, enquanto baixas temperaturas, estimulação adrenérgica, hormônio do crescimento, hormônios tireoidianos, esteróides androgênicos, melatonina e fumo parecem diminuir os seus níveis (9).

Os receptores da leptina, OB-R, pertencem à família de receptores das citocinas I, que inclui os receptores para as interleucinas 2 a 7, LIF, GM-CSF, GRH, prolactina e eritropoetina. Na presença de leptina, seus receptores dimerizam e são ativados por alterações conformacionais, levando à ativação de proteínas JAK (*Janus cinase*) e STAT (*Signal Transduction and Activation of Transcription*) (7). Os monômeros do receptor são então fosforilados em resíduo tirosina do domínio intracelular por uma Janus cinase (JAK2), passando a ancorar três proteínas transdutoras do sinal e ativadoras da transcrição (STATs 3, 5 e 6). As STATs ancoradas são então fosforiladas em resíduos tirosina pela JAK, dissociando-se do receptor e formando homo ou heterodímeros que se movimentam no núcleo, onde se ligam a seqüências específicas de DNA, estimulando assim a expressão de genes-alvos específicos. Outras vias de sinalização já foram demonstradas, tais como JNK (NH₂-TERMINAL C-Jun cinase), p38 (p38 MAP cinase), cinase regulada extracelularmente (ERK), fosfolipase C (PLC), prostaglandinas E₂/F₂ (PGE₂/PGF₂) entre outros (10).

A leptina, proteína pequena com 167 resíduos de aminoácidos e 16 kDa, possui um importante papel na regulação do balanço energético, apresentando duas ações: a primeira, em neurônios do núcleo arqueado hipotalâmico, onde estimula a expressão de neuropeptídeos ligados aos mecanismos de inibição da ingestão alimentar (pro-ópio-melanocortina – POMC e transcrito relacionado à cocaína e anfetamina – CART) e aumento do gasto energético total, via inervação simpática; e a segunda, em outros neurônios do mesmo núcleo, inibindo a expressão do neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo *agouti* (AgRP), envolvidos nos mecanismos de aumento da ingestão alimentar e na redução do gasto energético. Seus efeitos também se estendem ao metabolismo lipídico, com a ativação da adenil-ciclase e aumento da oxidação lipídica no músculo esquelético e, no fígado, suprimindo a atividade da esterol-CoA dessaturase e reduzindo a síntese de TAG a partir de ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 1. Fatores protéicos e não-protéicos produzidos e secretados pelo TAB.

Substância	Efeitos biológicos
Leptina Adiponectina	Sinaliza o SNC sobre os estoques corporais de energia. Aumenta a sensibilidade à insulina, é anti-inflamatório e atenua a progressão da aterosclerose.
Resistina TNF- α Interleucina 6 Adipsina ASP Angiotensinogênio PAI-1 Fator Tecidual VEGF Visfatina Monobutirina* TGF β	Aumenta a resistência à insulina. Lipolítico, aumenta o consumo energético e reduz a sensibilidade à insulina. Pró-inflamatório, lipolítico, reduz a sensibilidade à insulina. Ativa a via alternativa de complemento. Estimula a síntese de triacilgliceróis no TAB. Precursor da angiotensina II, envolvido na regulação da pressão arterial. Inibe a ativação do plasminogênio, bloqueando a fibrinólise. Iniciador da cascata de coagulação. Estimula a proliferação vascular (angiogênese) no TAB. Insulinomimético produzido predominantemente pela gordura visceral. Vasodilatador e indutor de neoformação vascular Regula uma série de processos no TAB, entre os quais proliferação de pré-adipócitos, diferenciação, desenvolvimento e apoptose de adipócitos.
IGF1 HGF MIF LLP# CETP# Apo-E# Prostaglandinas*	Estimula proliferação e diferenciação de adipócitos. Estimula diferenciação e desenvolvimento de adipócitos. Imuno-regulador com atuação parácrina no TAB. Enzima estimuladora da hidrólise de TAG de lipoproteínas (quilomícrons e VLDL). Transfere ésteres de colesterol entre lipoproteínas. Componente protéico das lipoproteínas, especialmente das VLDL. Reguladores de diversos processos celulares, atuam na inflamação, coagulação sanguínea, ovulação e secreção ácida gástrica.
Estrógenos*	Produzido pela ação da aromatase, sendo a principal fonte estrogênica em homens e em mulheres após a menopausa.
Glicocorticóides*	Gerado pela ação da 11-hidroxiesteróide desidrogenase, tipo II, que transforma cortisona em cortisol no TAB.
Apelina	Ações biológicas ainda não muito claras, relacionadas ao controle dos estoques energéticos corporais.

(*) substâncias não protéicas; (#) proteínas sem ação hormonal.

Além de importante lipostato (mensurador de depósitos lipídicos do organismo), a leptina exerce outros efeitos na reprodução, angiogênese, na resposta imune, controle da pressão sanguínea e osteogênese (7). A habilidade da leptina em restaurar a puberdade e fertilidade foi evidenciada em ratos *ob/ob*, demonstrando que este hormônio é necessário para a maturação do eixo reprodutivo, uma vez que a sua deficiência ou insensibilidade está associada a hipogonadismo hipotalâmico.

No sistema imune, a leptina parece ser capaz de aumentar a produção de citocinas em macrófagos, aumentar a adesão e mediar o processo de fagocitose, a partir de uma supra-regulação dos receptores de macrófagos ou pelo aumento da atividade fagocitária. Também exerce efeito direto na proliferação das células T, mostrando uma resposta adaptativa desse hormônio ao aumento da competência imune do organismo contra a imunossupressão associada à falta de energia (7).

O efeito angiogênico da leptina foi constatado pela formação de tubos capilares *in vitro*, a partir da estimulação de células endoteliais, causando um aumento na sobrevivência e/ou proliferação celular (11).

Seu efeito regulador da pressão sanguínea envolve uma resposta pressora atribuída à ativação do sistema simpático e uma resposta depressora atribuída à síntese de NO, indicando que a leptina atua de forma dual, produzindo simultaneamente uma ação pressora neurogênica e uma resposta depressora mediada por NO.

O TNF- α é uma citocina imunomodulatória e pró-inflamatória que age diretamente no adipócito regulando acúmulo de gordura e interferindo diretamente em diversos processos dependentes de insulina, como a homeostase glicêmica e o metabolismo de lipídios (12). Seu efeito mais intenso é a inibição da lipogênese (via inibição da expressão da lipase de lipoproteína – LLP, GLUT-4 e da acetil Coa sintetase) e aumento da lipólise. Também tem recebido particular interesse seu efeito na regulação da massa de tecido

adiposo, que parece estar associada com mudanças no número ou volume de adipócitos (13).

A expressão e a secreção de TNF- α estão aumentadas em animais e humanos obesos, correlacionando positivamente com aumento do volume de adipócitos. Um estudo comparando indivíduos com peso ideal (IMC 19–24kg/m²) e obesos (IMC 32–54 kg/m²) demonstrou correlação positiva entre RNAm de TNF- α e IMC, sugerindo que altos níveis de TNF- α se correlacionam com acúmulo de tecido adiposo, principalmente em obesos (14). Em ratos obesos, a neutralização do TNF- α causou melhora significativa na captação de glicose em resposta à insulina, revelando sua relação com resistência insulínica na obesidade (15). Em humanos obesos, existe uma forte correlação inversa entre TNF- α e metabolismo de glicose, devido à supressão pelo TNF- α da sinalização da insulina, reduzindo a fosforilação do substrato do receptor de insulina-1 (IRS-1) e da atividade da PI3K (fosfatidil-inositol-3-cinase), com redução da síntese e da translocação do transportador de glicose (GLUT-4) para a membrana, e conseqüente diminuição na captação de glicose mediada pela insulina (16).

Esta citocina também está envolvida no processo inflamatório indutor de aterogênese, participando da migração de monócitos e sua conversão em macrófagos na parede endotelial, por meio da transcrição do fator nuclear κ -B (NF κ B), que modula uma série de mudanças inflamatórias na parede vascular (17).

Um outro produto de secreção pelos adipócitos, a proteína estimulante de acilação (ASP), tem importante efeito na lipogênese por meio do aumento na translocação de GLUT-4, na produção de glicerol-3-fosfato e na atividade da diacil-glicerol aciltransferase (DGAT), enzima catalisadora da síntese de TAG. Ao mesmo tempo, inibe a lipólise por meio da inibição da LHS (18,19).

Outra citocina com efeito pró-inflamatório e ação no metabolismo de carboidratos e lipídios é a IL-6. A sua infusão em doses próximas à fisiológica em humanos saudáveis promove a lipólise, independentemente da modulação de catecolaminas, glucagon e insulina. Esse efeito se dá a partir da inibição da LLP e aumento na liberação de ácidos graxos livres e glicerol. A IL-6 é secretada por macrófagos e adipócitos e sua expressão pode ser estimulada pelas catecolaminas via receptores adrenérgicos β_2 e β_3 do TAB, quando em concentrações elevadas.

Assim como o TNF- α e a IL-6, a resistina é uma proteína com propriedades pró-inflamatórias secretada por monócitos e adipócitos. Apesar de expressa e secretada em indivíduos magros, seus níveis estão comu-

mente mais elevados na obesidade. Efeitos da administração e neutralização de resistina na tolerância à glicose nos tecidos – muscular esquelético e adiposo – indicam que a sua ação se dá por meio da modulação negativa de uma ou mais etapas da sinalização da insulina voltadas para aumentar a captação de glicose (20,21). Além disso, ela promove resistência à insulina por meio de aumento da gliconeogênese hepática (18). Também foi observado que a sua expressão é cerca de 3 vezes maior em pré-adipócitos quando comparada com adipócitos maduros, indicando ser uma potencial reguladora da adipogênese (21,22).

PAI-1 promove a formação de trombos e ruptura de placas aterogênicas instáveis e, através da inibição da produção de plasmina, é capaz de alterar o balanço entre fibrinólise e fibrinogênese, contribuindo para a remodelação da arquitetura vascular e processo aterosclerótico. Uma forte correlação, encontrada em indivíduos obesos, entre elevados níveis de PAI-1 e outras condições relacionadas à síndrome metabólica (hiperglicemia, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia de jejum, e altas concentrações de LDL-colesterol) vem sendo demonstrada por vários estudos (17,23).

A associação entre adiposidade e sistema renina-angiotensina tem sido sugerida em alguns modelos patogênicos. O TAB é capaz de secretar angiotensinogênio, renina, receptores 1 e 2 de angiotensina II (AT₁ e AT₂) e enzima conversora de angiotensina (ECA), proteínas que participam da diferenciação de adipócitos e da lipogênese, indicando o seu envolvimento com o processo de acúmulo de gordura corporal. Além disso, o forte papel aterogênico da angiotensina II, estimulando diretamente a produção de molécula de adesão-1 e fator estimulador de colônia de macrófagos na parede endotelial, que aumentam a geração de óxido nítrico e radicais livres, a atividade plaquetária e a expressão de PAI-1, indica um intenso elo entre obesidade, hipertensão e doenças cardiovasculares.

A adiponectina, ao contrário da demais adipocinas, age como fator protetor para doenças cardiovasculares e aumenta a sensibilidade insulínica. Também conhecida como Acrp-30 (*30-kDa adipocyte complement-related protein*), apM1 ou adipoQ, é uma proteína expressa exclusivamente em adipócitos diferenciados. Suas concentrações circulantes são elevadas (500–30.000 μ g/L), representando 0,01% da proteína total plasmática (24).

O seu efeito antiinflamatório e anti-aterogênico é promovido pela diminuição da expressão da molécula de adesão-1 (a partir da redução da expressão de TNF- α e atividade da resistina), pela diminuição da

quimiotaxia ao macrófago com redução da formação de células espumosas e inibição da sinalização inflamatória no endotélio (16).

Uma correlação negativa entre o grau de obesidade e níveis circulantes de adiponectina já foi bem demonstrada, bem como um aumento na sua concentração com a redução de peso, assim como a associação entre baixos níveis desta proteína com resistência à insulina e hiperinsulinemia. O aumento na sensibilidade à insulina se dá por meio de aumento da oxidação de ácidos graxos, da captação e utilização da glicose no tecido adiposo e no músculo esquelético e de redução da produção hepática de glicose, levando a um melhor controle dos níveis séricos de glicose, de ácidos graxos livres e de TAG (18,22). Em adipócitos de ratos, *in vitro*, uma redução de 60% na expressão de adiponectina resultou em um aumento significativo da resistência insulínica.

Recentemente, outras adipocinas foram descobertas: 1) visfátina, adipocina predominante no tecido adiposo visceral, parece desempenhar um papel importante na regulação da homeostase glicêmica, ao se ligar ao receptor de insulina, “mimetizando” a sua sinalização intracelular (25), e 2) apelina, cuja função parece estar relacionada à regulação da ingestão alimentar (26).

Frente a grande diversidade de proteínas secretadas pelo TAB, assim como de seus efeitos que atingem desde os próprios adipócitos até outros tecidos do organismo, constata-se cada vez mais que o TAB tem uma ligação direta com patologias associadas à obesidade, em especial a resistência à insulina e a síndrome metabólica.

O TAB se distribui em diversos depósitos no organismo, anatomicamente classificados como tecido adiposo subcutâneo (TAS) e tecido adiposo visceral (TAV). O TAS é principalmente representado pelos depósitos abaixo da pele nas regiões abdominal, glútea e femoral. O TAV refere-se ao tecido depositado próximo ou mesmo no interior das vísceras da cavidade abdominal, sendo bem exemplificado pelas gorduras mesentérica, omental e retroperitoneal. Há um dimorfismo sexual na distribuição regional do TAB, com as mulheres usualmente tendo maior grau de adiposidade do que os homens e apresentando maior razão TAS/TAV do que esses (27).

Além das diferenças quanto à localização anatômica, também a funcionalidade e o metabolismo do TAV e do TAS variam de região para região, apresentando uma certa especificidade e, possivelmente, especialização. Nos adipócitos viscerais, o efeito lipolítico das catecolaminas é mais intenso e o efeito antilipolítico da insulina é mais fraco, o que acarreta maior mobilização de ácidos graxos livres pela lipólise a partir

dos depósitos gordurosos intra-abdominais do que a partir dos depósitos subcutâneos glúteo-femorais. A acentuada resposta às catecolaminas no TAV pode estar relacionada à presença de maior quantidade de receptores β_1 e β_2 adrenérgicos na superfície celular e ao aumento na expressão de seus RNAm nos adipócitos abdominais e omentais em relação aos subcutâneos.

A produção e a secreção de proteínas são atividades metabólicas do TAB que também estão sujeitas a variações regionais. Assim, enquanto a proteína estimulante da acilação (ASP) é predominantemente expressa no TAS, a adiponectina, o angiotensinogênio, a interleucina-6 (IL-6), o inibidor de ativação do plasminogênio-1 (PAI-1) e a proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP) são fatores principalmente secretados pelos adipócitos viscerais (28,29). Um outro exemplo dessas diferenças refere-se à atividade da enzima 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1 responsável por gerar cortisol ativo a partir de cortisona, que está aumentada nos adipócitos viscerais quando comparada aos subcutâneos (23,29).

Em um estudo no qual se determinaram os níveis de RNAm da leptina através do método quantitativo da reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR) em adipócitos isolados de indivíduos obesos, relatou-se maior quantidade de RNAm nos adipócitos subcutâneos do que nos omentais (30). A secreção e a expressão gênica de leptina foram avaliadas no TAS e no TAV de mulheres obesas e não-obesas, e os resultados demonstraram que a taxa de secreção e os níveis de seu RNAm foram aproximadamente duas a três vezes maiores no depósito subcutâneo do que no omental nos dois grupos de mulheres (31). Esses estudos indicam que a expressão gênica e a secreção de leptina são maiores no tecido adiposo subcutâneo do que no visceral.

METABOLISMO DOS ADIPÓCITOS

Como foi mencionado, o TAB possui intensa atividade metabólica, que contribui notavelmente para o controle da homeostase energética do organismo. Em virtude da sua destacada atuação na regulação metabólica, aliada à importância que adquiriu nos últimos tempos, o tecido adiposo passou a ser considerado um órgão central do controle metabólico. Reforça essa impressão o fato de que este tecido sofre a atuação de uma imensa lista de outros hormônios que promovem efeitos diversos, não só sobre o seu metabolismo como sobre a sua função endócrina, e sobre a regulação da adipogênese (tabela 2).

Tabela 2. Receptores hormonais identificados em adipócitos.

Receptor Hormonal	Principais efeitos biológicos
Leptina	(+) Lipólise e oxidação lipídica
Insulina	(+) Lipogênese e captação de glicose e (-) lipólise
Glicocorticóides	(+) Lipólise
Glucagon	(+) Lipólise
Catecolaminas	(+) Lipólise
T ₃ e T ₄	(+) Lipólise
Esteróides sexuais	Regulam desenvolvimento do adipócito
IGF 1 (fator de crescimento insulina-símile)	(+) Adipogênese
GH (hormônio de crescimento)	(+) Lipólise
Prostaglandinas	(-) Lipólise
TNF- α (Fator de necrose tumoral α)	(+) Lipólise e aumenta resistência à insulina
IL-6 (interleucina - 6)	(-) LPL, (+) Lipólise
Adenosina	(-) Lipólise e (+) captação de glicose
Adiponectina	(+) sensibilidade à insulina
Gastrina	Regula a expressão de leptina
CCK (Colecistocinina)	Regula a expressão de leptina
GIP (Peptídeo gastro-inibidor)	(+) síntese de AGL e TAG
GLP1 (Peptídeo glucagon-símile 1)	(+) síntese de ácidos graxos
ASP (Proteína estimuladora de acilação)	(+) síntese de TAG
ANP (Peptídeo natriurético atrial)	Modula o metabolismo de glicose
Angiotensina II	(+) Lipogênese, induz resistência à insulina
Bradicinina	Aumenta a sensibilidade à insulina
EGF (Fator de crescimento epidermal)	Regula a diferenciação de adipócitos
TGF β (Fator transformador de crescimento β)	Bloqueia a diferenciação de adipócitos
Melatonina	Sinergiza a ação da insulina

Observação: A lista acima é parcial, pois várias outras substâncias com ação biológica foram testadas e apresentaram efeitos sobre os adipócitos ou sobre a adipogênese. Assim, esta lista procura demonstrar que o TAB é alvo de uma ampla gama de hormônios que participam da regulação da sua atividade metabólica e endócrina e revela a importância que este tecido tem para a homeostase energética do organismo.

As principais ações metabólicas do TAB podem ser divididas em atividades lipogênicas e atividades lipolíticas. Entende-se sobre atividade lipogênica todos os processos metabólicos que resultam em biossíntese, incorporação e armazenamento de TAG na gotícula de gordura intracitoplasmática, ao passo que atividade lipolítica se refere às ações que resultam na hidrólise do TAG armazenado e na liberação de ácidos graxos livres (AGL) e glicerol.

Para a biossíntese de TAG, o adipócito necessita de uma fonte de glicerol-3-fosfato (glicerol-3-P) e de AGL complexado com coenzima A (CoA), constituindo o composto acilCoA. O primeiro é obtido como um produto da via glicolítica, e o segundo provem da biossíntese a partir de acetilCoA ou da captação de AGL proveniente de lipoproteínas (quilomícrons e VLDL) circulatórias que no TAB sofrem a ação da LPL, que hidrolisa o TAG nelas contido, liberando os AGL, que são transportados para o citoplasma dos adipócitos.

A produção de glicerol-3-P requer a captação de glicose, o que envolve proteínas transportadoras específicas, os GLUTs (GLUT1 e GLUT4), e este processo é controlado pela insulina. Assim, a insulina secretada durante o período prandial, estimula a translocação de GLUT4 para a membrana celular,

aumentando o transporte de glicose. Além disso, o ritmo de metabolização da hexose é acelerado pela insulina, gerando mais glicerol-3-P.

Parte do fluxo de metabólitos da via glicolítica segue em direção à formação de piruvato que, transportado para o interior da mitocôndria, é transformado em acetilCoA pela ação da *piruvato desidrogenase* (PDH). Este é acoplado a oxalacetato pela ação da *citrato sintase* (CS), gerando citrato. Parte do citrato é transportado de volta ao citoplasma, onde sofre a ação da enzima *ATP-citrato liase* (ATP-CL), gerando novamente acetilCoA. Esta sofre a ação da enzima *acetil-CoA carboxilase* (ACC) transformando-se em malonil-CoA. Este último produto entra em uma complexa via de síntese de ácidos graxos, catalisada pela enzima *ácido graxo sintase* (FAS), que culmina na formação de acilCoA, que é utilizado para a esterificação com glicerol-3-P, completando a biossíntese de TAG, que é finalmente incorporado à gotícula citoplasmática de gordura. A FAS necessita, para a sua ação, da presença do co-fator NADPH₂, que é fornecido pela via do *shunt* das pentoses (uma via metabólica menor da glicose paralela à via glicolítica) e pela ação da *enzima málica* (EM).

Embora o TAB seja capaz de sintetizar AGL, este é fornecido ao tecido em maior quantidade pelas lipoproteínas já mencionadas anteriormente. Estas são submetidas à ação da LPL por ocasião da passagem desse material pela microcirculação do tecido adiposo. Assim, os AGL são liberados das partículas e são captados pelos adipócitos. Devido à presença da carboxila, que é uma estrutura polar, a difusão dos AGL pelas membranas dos adipócitos não é um processo simples, do ponto de vista termodinâmico, pois este composto teria que atravessar a região hidrofóbica apolar da bicamada lipídica da membrana celular. Desta forma, a proporção maior da captação se dá por difusão facilitada através de transportadores. Foram descritas proteínas que facilitam o transporte de AGL, entre as quais a CD36, presente em inúmeras membranas biológicas, onde atua como receptor de vários tipos de moléculas, tendo um papel de cooperar com o processo de captação. A CD36 apresenta a molécula de AGL para uma outra proteína, FATP (proteína transportadora de AGL), que, como a CD36, é uma proteína integral da membrana e atua como um facilitador da difusão para o interior da célula. Uma vez no citosol, que é um meio aquoso, o AGL se liga a outra proteína ligadora, FABP, que transporta o produto para ser acilado com coenzima A. Este processo é executado por uma outra proteína integral da membrana, a acilCoA sintase (ACS). Finda esta etapa, a acilCoA é levada por outra proteína, a ACBP (proteína ligadora de acilCoA), para os locais de esterificação com glicerol-3-P. Uma vez concluída a síntese dos TAG, estes são transferidos para a gotícula de óleo citoplasmática.

A síntese de TAG, tal como descrita acima, não ocorre exclusivamente em adipócitos. Estes processos foram descritos em vários outros tecidos, nos quais o acúmulo de TAG também leva à formação de gotículas intracitoplasmáticas de óleo. A ocorrência destas inclusões oleosas em outros tecidos, entretanto, é um sinal de irregularidade. O acúmulo de TAG no citoplasma de outras células que não adipócitos permite que estes substratos sejam metabolizados, levando à formação produtos como ceramidas, que propiciam a ativação de *sintase de óxido nítrico induzida* (iNOS), com conseqüente formação de NO e indução de processo de apoptose através da ativação de fator nuclear κ B (NF κ B) (32). Isto é descrito como um fenômeno de lipotoxicidade. Entre as manifestações de lipotoxicidade citam-se a esteatose hepática e muscular, comuns em uma série de entidades patológicas. O adipócito está aparentemente imune a este processo. Uma das causas disto é o fato de que as gotículas de óleo, nos adipócitos, estão completamente envoltas

por uma capa protéica de perilipinas, o que impede os TAG de serem metabolizados de forma semelhante ao descrito em outras células.

A outra habilidade importante do adipócito é a de realizar a lipólise dos TAG, liberando AGL e glicerol. Este processo depende da ativação da enzima *lipase hormônio-sensível* (HSL). A sua ativação se dá por meio de fosforilação em serina, pela ação da *cinase protéica A* (PKA). Este processo é estimulado principalmente por catecolaminas, e ocorre durante o jejum ou em condições de grande demanda de energia metabólica, como o exercício físico e certas situações de estresse, nas quais há uma intensa solicitação simpática. Durante a ativação da lipólise, aumentam os níveis intracelulares de AMP cíclico (AMPc) com a conseqüente ativação da PKA. Esta atua também sobre as perilipinas de forma semelhante à HSL. As perilipinas fosforiladas se deslocam da superfície das gotículas de óleo, se dispersam pelo citosol e abrem espaços para o acesso da HSL ao seu substrato, o TAG. Os AGL formados se ligam à FABP e são levados à membrana celular, onde são liberados para o meio extracelular mediante o transporte através da FATP. O glicerol é transportado para o exterior celular através de transportadores específicos, que são proteínas pertencentes à família das aquagliceroporinas (33) (figura 1).

ADIPOGÊNESE

Os estudos sobre o processo de diferenciação do tecido adiposo, fenômeno denominado de adipogênese, têm sido extensivamente realizados *in vitro*, com o intuito de desvendar a base molecular e celular do desenvolvimento do tecido adiposo e o seu comprometimento em estados fisiológicos e patológicos, de modo a permitir a formulação de estratégias terapêuticas e preventivas do excesso de tecido adiposo (obesidade) e de sua escassez (lipodistrofias e lipoa-trofias).

A partir de estudos morfológicos realizados em embriões humanos, porcos e murinos, ficou comprovado que a adipogênese se inicia antes do nascimento. A cronologia do aparecimento do tecido adiposo é estritamente dependente da espécie e do depósito adiposo sob consideração (34).

Após o nascimento ocorre uma expansão rápida do tecido adiposo, como resultado do aumento do tamanho e do número celular. O potencial de gerar novas células de gordura persiste mesmo na fase adulta. O número de células adiposas pode aumentar

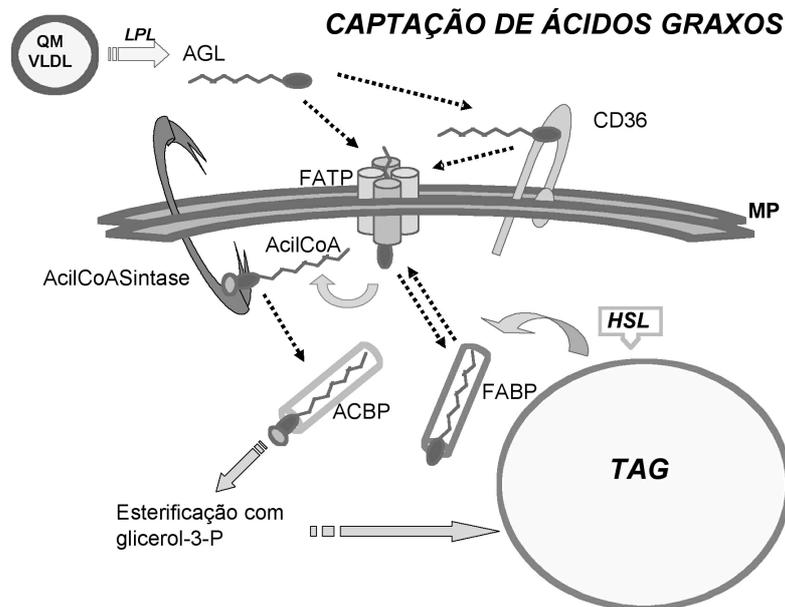


Figura 1. Captação de ácidos graxos livres pelos adipócitos. Esquema mostrando as várias passagens do processo de captação de ácidos graxos livres pelos adipócitos, bem como a biossíntese de TAG. Maiores detalhes no texto. QM= quilomícron, VLDL= lipoproteína de densidade muito baixa, AGL= ácido graxo livre, LPL= lipase de lipoproteínas, TAG= triacilglicerol, MP= membrana plasmática, FATP= proteína transportadora de ácidos graxos, FABP= proteína ligadora de ácidos graxos, ACBP= proteína ligadora de acilCoA, HSL= lipase hormônio-sensível.

quando ratos são alimentados com dieta rica em carboidratos ou lipídios. Mudanças no número de adipócitos ocorrem mediante um complexo arranjo de eventos que envolvem proliferação e diferenciação de pré-adipócitos. A diferenciação do pré-adipócito em adipócito é um processo altamente controlado. Fatores de transcrição adipogênicos, incluindo o *receptor gama ativado por proliferadores de peroxissomas* (PPAR γ), a *proteína 1c ligadora do elemento regulado por esteróis* (SREBP-1c) e as *proteínas ligantes ao amplificador CCAAT* (CCAAT/enhancer binding protein – C/EBPs) desempenham um papel-chave na complexa cascata transcripcional que ocorre durante a adipogênese. Sinais hormonais e nutricionais afetam a diferenciação do adipócito de maneira positiva e negativa, e componentes envolvidos na interação célula-célula ou na matriz celular também são importantes na regulação do processo de diferenciação.

Os pré-adipócitos são linhagens celulares derivadas de células-tronco embrionárias multipotentes de origem mesodérmica, com capacidade de se diferenciar em adipócitos, condrócitos, osteoblastos e miócitos (35) (figura 2).

A proteína SREBP é um fator de transcrição clonado originalmente do tecido adiposo de rato, que guarda as seguintes características: é do tipo hélice-

alça-hélice básico (bHLH), contém uma região que forma um *zipper* de leucina com importante papel na adipogênese, na sensibilidade insulínica e na homeostase dos ácidos graxos (36). A família do SREBP é composta de dois membros: o SREBP-1 e o SREBP-2. Contudo, existem duas isoformas do SREBP-1 (SREBP-1a e SREBP-1c), derivadas a partir de *splicing* alternativo do primeiro éxon dentro do mesmo transcrito primário. Os SREBPs 1a e 1c são controlados independentemente por regiões regulatórias que parecem responder diferentemente a fatores orgânicos e metabólicos específicos.

O fator de determinação e diferenciação dependente do adipócito (ADD1) é homólogo à isoforma SREBP-1c de humanos (37). O SREBP-1c/ADD1 é predominantemente expresso em fígado, glândula adrenal, tecido adiposo e músculo esquelético, enquanto o SREBP-1a, no baço. O principal papel do SREBP-2 é controlar a biossíntese de colesterol. *In vitro*, o ADD1/SREBP-1c aumenta a atividade transcripcional do PPAR γ , elevando a proporção de células submetidas ao processo de diferenciação.

O PPAR γ é um membro de uma superfamília de receptores nucleares. É altamente expresso no tecido adiposo e estimula a transcrição de muitos genes específicos do adipócito, assim como os passos iniciais

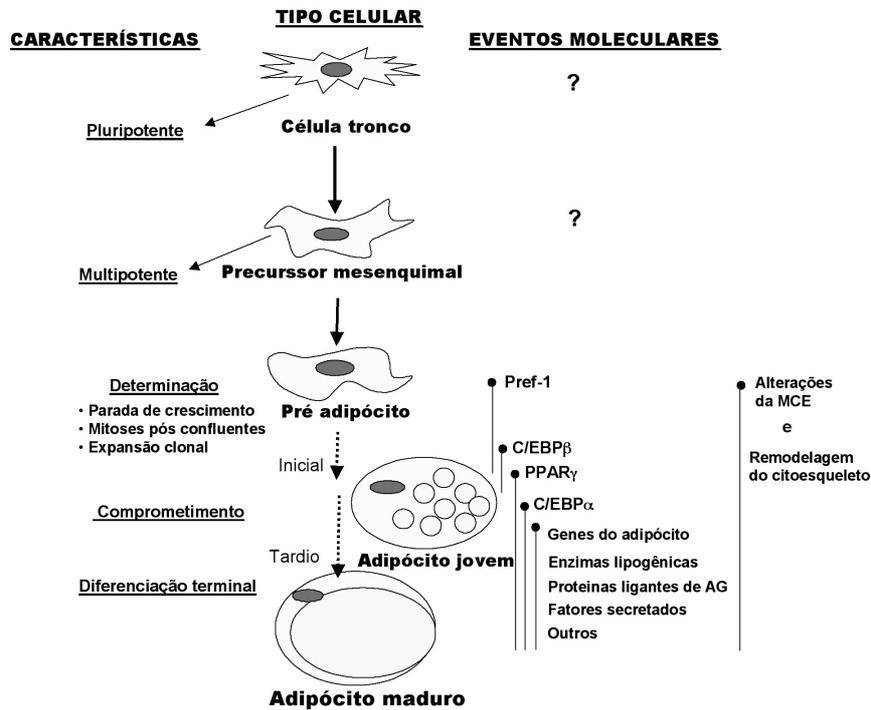


Figura 2. Visão esquemática do processo de diferenciação do adipócito. O atual entendimento da diferenciação do adipócito indica que precursores de células tronco pluripotentes dão origem a células precursoras mesenquimais com um potencial de se diferenciar em mioblastos, condroblastos, osteoblastos e adipócitos. Seletivas moléculas acompanham este processo de diferenciação como indicado acima, com sua duração aproximada representada pela linha sólida. (Adaptado de ref. 58)
PPAR- γ = receptor γ ativado por proliferadores de peroxissomas; C/EBP = proteína amplificador ligante ao CCAAT; Pref-1 = fator pré-adipócito 1; MEC = matriz extracelular; AG = ácido graxo.

da adipogênese, tendo um papel crítico na regulação da diferenciação do adipócito (38). Existem duas isoformas de PPAR γ (PPAR γ -1 e -2) gerados por promotores distintos e mecanismos alternativos de *splicing*. O PPAR γ -1 é altamente expresso no tecido adiposo e em menor proporção em uma variedade de outros tipos celulares (macrófagos, pneumócitos e epitélio do cólon etc.). O PPAR γ -2 é uma isoforma exclusiva do tecido adiposo, e tem uma região amino terminal com trinta aminoácidos a mais do que a isoforma 1. O PPAR γ pode ser ativado por compostos sintéticos denominados tiazolidinedionas (TZD), os quais são usados clinicamente como agentes antidiabéticos (39).

Os C/EBPs são membros da família b-zip (domínio básico de ligação do DNA), que contém um domínio *zipper* de leucina necessário para a dimerização. As isoformas do C/EBP (α , β e δ) são altamente expressas no adipócito e são induzidas durante a adipogênese. O C/EBP α tem um papel importante na diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos e atua na conversão de fibroblastos em adipócitos. O C/EBP β também induz adipogênese, possivelmente por estimular a expressão

do PPAR γ , cujo gene contém sítios C/EBP na sua região promotora. Foi demonstrado que o PPAR γ é um potente estimulante da cascata de diferenciação celular do adipócito e atua sinergisticamente com C/EBP α para promovê-la (40) ou para induzir a diferenciação de fibroblastos em adipócitos (41). C/EBP α e PPAR γ se ligam à região promotora e ativam genes específicos do TAB, tais como a proteína ligadora de ácidos graxos (conhecida como aP2) e a fosfo-enol-piruvato carboxicinase (PEPCK).

Sabe-se que o envelhecimento é um processo caracterizado pelo declínio funcional de muitos sistemas, incluindo o TAB, que se reduz em indivíduos idosos. Kirkland e cols. (42) identificaram que a capacidade de pré-adipócitos em se diferenciar e acumular lipídeos diminui com a idade.

Em estudos moleculares, verificou-se que a expressão da C/EBP α diminuiu substancialmente em cultura de pré-adipócitos em processo de diferenciação com o avançar da idade (43). Esta queda em função da idade atingiu vários grupamentos adiposos, como as gorduras periepididimal, inguinal e perirrenal.

Essas mudanças na expressão dos fatores de transcrição não influenciaram apenas a diferenciação, mas também a função metabólica da célula adiposa. Com efeito, uma redução do tamanho do adipócito e uma menor expressão de C/EBPs prejudicaram a tolerância à glicose através do comprometimento da expressão da isoforma 4 do transportador de glicose (GLUT4), entre outros mecanismos.

INFLUÊNCIA DA GLÂNDULA PINEAL SOBRE A BIOLOGIA DO ADIPÓCITO

O “órgão” adiposo, como já foi mencionado, produz vários hormônios e peptídeos ativos, tais como leptina, adiponectina, adiposina, inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI-1), proteína estimulante de acilação (ASP), angiotensinogênio e fator de necrose tumoral- α (TNF- α), e esta lista vem sendo constantemente ampliada com a descoberta de novas substâncias biologicamente ativas. Adicionalmente, para o seu desenvolvimento (determinação e diferenciação) como para o seu funcionamento, o tecido adiposo está sob controle de uma ampla gama de hormônios, alguns com atividade predominantemente catabólica (como as catecolaminas) e outros com atividade predominantemente anabólica (como a insulina). Outros ainda, como os glicocorticóides, possuem um papel permissivo e outros, como os hormônios tireoidianos, são importantes nas primeiras etapas da embriogênese do tecido adiposo; também à esta lista, mais hormônios vêm sendo acrescentados por desempenharem ações importantes sobre este tecido, como é o caso do TNF- α e da melatonina.

Com relação à melatonina, produto hormonal da glândula pineal, esta tem sido recentemente implicada com a função do tecido adiposo. Um elo funcional entre a glândula pineal e o tecido adiposo se tornou mais evidente após estudos pioneiros envolvendo adipócitos isolados de tecido adiposo branco incubados com a melatonina, mostrando que este hormônio aumenta a sensibilidade à insulina medida através de testes de captação de glicose (44), e que a pinealectomia leva ao desenvolvimento de resistência à insulina, com redução do conteúdo e da expressão gênica de GLUT4 neste tecido (45). Em estudos mais recentes (46), constatou-se que a pinealectomia provocou resistência insulínica e hipercorticosteronemia em todos os horários estudados ao longo das 24 h do dia e, ainda, provocou uma alteração diária nos parâmetros metabólicos dos adipócitos de forma a resultar num quadro de inadequação entre os requerimentos energéticos e a

capacidade de mobilizá-los de acordo com o ciclo diário de atividade-reposo. Esse mesmo efeito de desorganização rítmica metabólica provocada pela pinealectomia foi constatado quando se estudou resposta secretória de insulina em ilhotas pancreáticas isoladas frente a um estímulo glicêmico (47).

A partir destes dados, estudaram-se os mecanismos desse quadro de resistência insulínica e de incapacidade de ajuste metabólico de animais pinealectomizados frente a várias exigências ambientais, tais como o jejum e o exercício físico. Os resultados obtidos após o treinamento físico de ratos por 8 semanas mostraram que animais pinealectomizados não conseguiram melhorar o seu desempenho metabólico frente ao exercício, persistindo a resistência à insulina e uma piora geral do quadro metabólico. Adicionalmente, o conteúdo plasmático de leptina nestes animais mostrou-se significativamente reduzido em decorrência da pinealectomia (48). Em outro trabalho (49), investigaram-se as respostas adaptativas ao jejum de 36 h em animais pinealectomizados. A pinealectomia intensificou a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal de forma a elevar consideravelmente a corticosteronemia, além de induzir queda importante da leptina plasmática. Com efeito, a pinealectomia acentuou a resistência insulínica ao longo do jejum, ao mesmo tempo em que reduziu a atividade anabólica de adipócitos determinada por testes biológicos *in vitro*, isto é, intensificou a oxidação de glicose e reduziu a síntese de lipídios. Portanto, a deficiência da melatonina prejudicou a adaptação metabólica e impediu o animal de enfrentar condições estressantes (como exercício e jejum, por exemplo) e de se ajustar metabolicamente a elas. Em adição, a produção hormonal de leptina pelo TAB de ratos pinealectomizados se mostrou mais reduzida que a de animais intactos durante o jejum e após um programa de treinamento físico, ao mesmo tempo em que aos níveis plasmáticos de corticosterona estavam mais elevados. Estes dados revelaram que ratos pinealectomizados apresentavam um quadro de hipercorticosteronemia persistente (níveis do glicocorticóide elevados em cerca de 2 vezes o valor encontrado em ratos intactos). Como se pode ver, a glândula pineal, por atuar como um sincronizador interno do metabolismo energético e como um elo de conexão entre o meio ambiente e o organismo animal, parece funcionar em conjunto com o tecido adiposo como um grande sistema da adaptação metabólica aos desafios ambientais e ao estresse.

As questões levantadas por estes estudos com animais pinealectomizados a respeito do controle da secreção de leptina por insulina, glicocorticóides e pela

melatonina foram abordadas em outros estudos sobre os mecanismos de regulação da expressão gênica e secreção de leptina em adipócitos isolados mantidos em cultura primária, tratados com ou sem melatonina e combinações com os hormônios insulina e dexametasona. Em resumo, a melatonina exerceu agudamente (6 h de incubação) um efeito permissivo, fundamental para a ação da insulina sobre a expressão gênica de leptina. Este efeito foi bloqueado por toxina pertussis e forskolin. Convém mencionar que a melatonina exerce seus efeitos biológicos por interação com receptores de membrana e intracelulares. São conhecidos dois subtipos de receptores de membrana para melatonina (MT₁ e MT₂). A interação da melatonina com esses receptores de membrana desencadeia a ativação de proteína G inibitórias (G_i), resultando na redução da atividade da Adenil-ciclase e queda da geração de AMPc. Pelo uso de dois antagonistas destes receptores: 1) 4P-PDOT, que é seletivo para o subtipo MT₂, e 2) Luzindol, antagonista não seletivo (interage com receptores MT₁ e MT₂) (50), demonstrou-se que o efeito da melatonina sobre a síntese e secreção da leptina se dá pela sua ação em receptores do subtipo MT₁ (51). Estes dados revelam uma participação importante da melatonina sobre a regulação de expressão gênica de leptina, bem como o seu papel modulador sobre a ação de outros hormônios.

Deste modo, a resposta à insulina é modulada pela melatonina, e esta interação não está limitada aos aspectos metabólicos, mas abrange outras funções do adipócito, interferindo com a sua habilidade de funcionar como um órgão endócrino.

Para o esclarecimento do mecanismo básico deste sinergismo melatonina/insulina são necessárias ainda mais investigações. É sabido que a insulina modula eventos intracelulares por reduzir concentrações citoplasmáticas de AMPc (52,53), e, portanto, este poderia ser, por exemplo, o mecanismo pelo qual a insulina regula a expressão da leptina (uma vez que um aumento do conteúdo intracelular de AMPc leva à diminuição da produção desta adipocina). Dessa forma, considerando-se que a propagação intracelular do sinal biológico da insulina, envolvendo fosfatidil-inositol-3'-cinase (PI3K)/Cinase protéica B (PKB/AKT)/Fosfodiesterases (PDE3B, PDE4D), leva à metabolização e degradação de AMPc, pode-se postular que a insulina cause decréscimo da concentração deste nucleotídeo, reforçando o efeito da melatonina.

Para esclarecer estes mecanismos, as etapas iniciais de sinalização da insulina após incubações com melatonina foram investigadas. Os resultados mostraram que a melatonina aumentou o grau de fosforilação

em tirosina da sub-unidade β do receptor de insulina (IR β), sem modificar o seu conteúdo protéico. Este efeito se propagou pela cascata de sinalização da insulina, já que um aumento de fosforilação em serina da proteína AKT de intensidade semelhante também foi evidenciado. A habilidade da melatonina em ativar a sinalização da insulina (envolvendo a ativação de seu receptor de membrana) também foi demonstrada recentemente em hipotálamo de ratos (54). Tao e cols. (55) demonstraram recentemente que a ativação da proteína G_{ia2} melhora a sinalização da insulina por supressão da atividade da fosfotirosina fosfatase 1B (PTP1B, enzima que causa desfosforilação do IR β e reduz a sua atividade) e, ainda, que a supressão da expressão da proteína G_{ia2} provoca resistência à insulina. Considerando-se que a ação da melatonina ocorre preferencialmente através do receptor de membrana acoplado à proteína G_i (56), estes dados reforçam a hipótese de sinergismo entre melatonina e insulina. Uma hipótese para explicar o mecanismo do sinergismo melatonina/insulina propõe que a melatonina (agindo sobre MT₁ e ativando proteína Gi) modularia a capacidade tirosil-cinase do IR β mediante a ativação de fosfotirosinas fosfatases específicas, que são reguladas por variações do conteúdo de AMPc. Esta hipótese, entretanto, requer investigações futuras.

REFERÊNCIAS

1. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab** 2000;11:327-32.
2. Pénicaud L, Cousin B, Leloup C, Lorisignal A, Casteilla L. The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance. **Nutrition** 2000;16:903-8.
3. Kreier F, Fliers E, Voshol PJ, van Eden CG, Havekes LM, Kalsbeek A, et al. Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat – functional implications. **J Clin Invest** 2002;110:1243-50.
4. Pond C. Ecology of storage and allocation of resources: animals. **Encyclopedia of Life Sciences** 2001;1-5.
5. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiol Rev** 2004;84:277-359.
6. Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procópio J. **Entendendo a gordura. Os ácidos graxos**. São Paulo:Manole; 2002. p.163-72.
7. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 2001;280:E827-47.
8. Zhang Y, Proença R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature** 1994;372:425-32.

9. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. **J Clin Endocrinol Metab** 2004;89:2548-56.
10. Sweeney G. Leptin signalling. Review article. **Cell Signal** 2002;14:655-63.
11. Bouloumie A, Drexler HC, Lafontan M, Busse R. Leptin, the product of ob gene, promotes angiogenesis. **Circ Res** 1998;83:1059-66.
12. Sethi JK, Hotamisligil GS. The role of TNF alpha in adipocyte metabolism. **Semin Cell Dev Biol** 1999;10:19-29.
13. Warne JP. Tumour necrosis factor alpha: a key regulator of adipose tissue mass. **J Endocrinol** 2003;177:351-5.
14. Montague CT, Prins JB, Sanders L, Zhang J, Sewter CP, Digby J, et al. Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes. **Diabetes** 1998;47:1384-90.
15. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science** 1993;259:87-91.
16. Arner P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. **Ann Med** 1995;27:435-8.
17. Lyon CJ, Law RE, Hsueh W. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. **Endocrinology** 2003;144:2195-200.
18. Rajala MW, Scherer PE. Minireview: The adipocyte - at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Endocrinology** 2003;144:3765-73.
19. Van Harmelen V, Reynisdottir S, Cianflone K, Degerman E, Hoffstedt J, Nilssell K, et al. Mechanisms involved in the regulation of free fatty acid release from isolated human fat cells by acylation-stimulating protein and insulin. **J Biol Chem** 1999;274:18243-51.
20. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright C, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. **Nature** 2001;409:307-12.
21. Mcternan PG, Mcternan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Lauer MN, et al. Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:2407-10.
22. Mattison R, Jesen M. The adipocyte as an endocrine cell. **Curr Opin Endocrinol Diab** 2003;10:317-21.
23. Wajchenberg BL, Giannella-Neto D, Silva MER, Santos DA, Depot RF. Specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. **Horm Metab Res** 2002;34:616-21.
24. Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. **Trends Endocrinol Metab** 2002;13:84-9.
25. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto M. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. **Science** 2005;307:426-30.
26. Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigne C, Mazucotelli C, et al. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. **Endocrinology** 2005;146:1764-71.
27. Rosenbaum M, Pietrobelli A, Vasselli JR, Heymsfield SB, Leibel RL. Sexual dimorphism in circulating leptin concentration is not accounted for by differences in adipose tissue distribution. **Int J Obes Relat Metab Disord** 2001;25:1365-71.
28. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocr Rev** 2000;21:697-738.
29. Lafontan M, Berlan M. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? **Trends Pharmacol Sci** 2003;24:276-83.
30. Montague CT, Prins JB, Sanders L, Digby JE, O'Hahilly S. Depot- and sex-specific differences in human leptin mRNA expression: implications for the control of regional fat distribution. **Diabetes** 1997;46:342-7.
31. Van Harmelen V, Reynisdottir S, Eriksson P, Thörne A, Hoffstedt J, Lönnqvist F, et al. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. **Diabetes** 1998;47:913-7.
32. Unger RH, Zhou Y-T, Orci L. Regulation of fatty acid homeostasis in cells: Novel role of leptin. **Proc Natl Acad Sci USA** 1999;96:2327-32.
33. Leea DOT, Parka DB, Leea YK, Ana CS, Ohb YS, Kangc JS, et al. The effects of thiazolidinedione treatment on the regulations of aquaglyceroporins and glycerol kinase in OLETF rats. **Metabolism** 2005;54:1282-9.
34. Desnoyers F, Vodovar N. Etude histologique comparée chez le porc et le rat du tissu adipeux périrénel au stade de son apparition. **Biol Cell** 1977;29:177-182.
35. Konieczny SF, Emerson CP. 5-azacytidine induction of stable mesodermal stem cell lineages from 10T1/2 cells: evidence for regulatory genes controlling determination. **Cell** 1984;38:791-800.
36. Osborne TF. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): key regulators of nutritional homeostasis and insulin action. **J Biol Chem** 2000;275:32379-82.
37. Tontonoz P, Kim JB, Graves RA, Spiegelman BM. ADD1: a novel helix-loop-helix transcription factor associated with adipocyte determination and differentiation. **Mol Cell Biol** 1993;13:4753-9.
38. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Regulation of adipocyte gene expression and differentiation by peroxisome proliferator activated receptor gamma. **Curr Opin Genet Dev** 1995;5:571-6.
39. Kletzien RF, Clarke SD, Urrich RG. Enhancement of adipocyte differentiation by an insulin-sensitizing agent. **Mol Pharmacol** 1992;41:393-8.
40. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma2, a lipid-activated transcription factor. **Cell** 1994b;79:1147-56.
41. Hu E, Tontonoz P, Spiegelman BM. Transdifferentiation of myoblasts by the adipogenic transcription factors PPARgamma and C/EBPalpha. **Proc Natl Acad Sci USA** 1995;92:9856-60.
42. Kirkland JL, Hollenberg CH, Kindler S, Gillon WS. Effects of age and anatomic site on preadipocyte number in rat fat depots. **J Gerontol** 1994;49:B31-5.
43. Karagiannides I, Tchkonja T, Dobson DE, Steppan CM, Cummins P, Chan G, et al. Altered expression of C/EBP family members results in decreased adipogenesis with aging. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 2001;280:R1772-80.

44. Lima FB, Matsushita DH, Hell NS, Dolnikoff MS, Okamoto MM, Cipolla-Neto J. The regulation of insulin action in isolated adipocytes. Role of the periodicity of food intake, time of the day, and melatonin. **Braz J Med Biol Res** 1994;27:995-1000.
45. Lima FB, Machado UF, Bartol I, Seraphim PM, Sumida DH, Moraes SM, et al. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. **Am J Physiol** 1998;275:934-41.
46. Alonso-Vale MIC, Borges-Silva CN, Forato-Anhê G, Andreotti S, Machado MA, Cipolla-Neto J, et al. Light/dark cycle-dependent metabolic changes in adipose tissue of pinealectomized rats. **Horm Metab Res** 2004a;36:474-9.
47. Picinato MC, Haber EP, Carpinelli AR, Cipolla-Neto J. Daily rhythm of glucose-induced insulin secretion by isolated islets from intact and pinealectomized rats. **J Pineal Res** 2002;33:172-7.
48. Borges-Silva CN, Alonso-Vale MIC, Franzózi de Moraes SM, Takada J, Andreotti S, Peres SB, et al. Pinealectomy impairs adipose tissue adaptability to exercise in rats. **J Pineal Res** 2005;38:278-83.
49. Alonso-Vale MIC, Forato-Anhê G, Borges-Silva CN, Andreotti S, Peres SB, Cipolla-Neto J, et al. Pinealectomy alters adipose tissue adaptability to fasting in rats. **Metabolism** 2004b;53:500-6.
50. Masana MI, Dubocovich ML. Melatonin receptor signaling: finding the path through the dark. **Sci STKE** 2001;2001:PE39.
51. Alonso-Vale MIC, Andreotti S, Peres SB, Forato-Anhê G, Borges-Silva CN, Cipolla-Neto J, et al. Melatonin enhances leptin expression and release by rat adipocytes in the presence of insulin. **Am J Physiol** 2005;288:805-12.
52. Denton RM, Tavare JM. Mechanisms whereby insulin may regulate intracellular events. In: Ashcroft FM, Ashcroft SJH, eds. **Insulin from molecular biology to pathology**. Oxford:IRL Press; 1992. p.235-62.
53. Smith CJ, Vasta V, Degerman E, Belfrage P, Manganiello VC. Hormone-sensitive cyclic GMP-inhibited cyclic AMP phosphodiesterase in rat adipocytes. Regulation of insulin- and cAMP-dependent activation by phosphorylation. **J Biol Chem** 1991;266:13385-90.
54. Anhê GF, Caperuto LC, Pereira da Silva M, Souza LC, Velloso LA, Cipolla-Neto J, et al. *In vivo* activation of insulin receptor tyrosine kinase by melatonin in the rat hypothalamus. **J Neurochem** 2004;90:559-66.
55. Tao J, Malbon C, Wang H. $G_{\alpha 2}$ enhances insulin signaling via suppression of protein-tyrosine phosphatase 1B. **J Biol Chem** 2001;276:39705-12.
56. Petit L, Lacroix I, De Coppet P, Strosberg AD, Jockers R. Differential signaling of human Mel1a and Mel1b melatonin receptors through the cyclic guanosine 3'-5'-monophosphate pathway. **Biochem Pharmacol** 1999;58:633-9.
57. Arner P, Hellström L, Wahrenberg H, Brönnegard M. Beta-adrenoreceptor expression in human fat cells from different regions. **J Clin Invest** 1990;86:1595-600.
58. Gregoire FM, Smas CM, Sul HS. Understanding adipocyte differentiation. **Physiol Rev** 1998;78:783-809.
59. Hube F, Lietz U, Igel M, Jensen PB, Tornqvist H, Joost HG, et al. Difference in leptin mRNA levels between omental and subcutaneous abdominal adipose tissue from obese humans. **Horm Metab Res** 1996;28:690-3.
60. Park KG, Park KS, Kim MJ, Kim HS, Suh YS, Ahn JD, et al. Relationship between serum adiponectin and leptin concentrations and body fat distribution. **Diabetes Res Clin Pract** 2004;63:135-42.
61. Van Harmelen V, Dicker A, Rydén M, Hauner H, Lonqvist F, Naslund E, et al. Increased lipolysis and decreased leptin production by human omental as compared with subcutaneous preadipocytes. **Diabetes** 2002;51:2029-36.

Endereço para correspondência:

Fabio B. Lima
Depto. de Fisiologia e Biofísica
Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo
Av. Prof. Lineu Prestes 1524
05508-900 São Paulo, SP
Fax: (11) 3091-7248
E-mail: fabio@icb.usp.br