

PROTEINA DESACOPLANTE NA GORDURA MARROM*

Introdução

Existem dois tipos de tecido adiposo nos mamíferos, o tecido adiposo branco e o tecido adiposo marrom. O tecido adiposo marrom é um tecido-órgão encontrado em todos os neonatos das espécies mamíferas, mantendo-se presente em quantidades consideráveis apenas em indivíduos adultos de espécies hibernantes. Os depósitos de tecido adiposo marrom estão praticamente ausentes em humanos adultos, mas são encontrados em fetos e recém-nascidos. O tecido adiposo marrom é especializado na produção de calor (termogênese) e, portanto, participa ativamente na regulação da temperatura corporal. Atua essencialmente na produção de calor em recém nascidos, no desenvolvimento do estado febril e na hibernação dos mamíferos. 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. Este processo ocorre porque a proteína desacopladora-1 (são sinônimos: Uncoupling Protein-1, UCP-1 e termogenina) é uma proteína da membrana mitocondrial interna do adipócito marrom que atua como um canal de próton, descarregando a energia gerada pelo acúmulo de prótons no espaço intermembranoso das mitocôndrias durante as reações oxidativas do ciclo de Krebs. Esta ação desvia esses prótons do complexo F_1F_0 (ATP sintetase) e impede a síntese de ATP, permitindo que a energia estocada na mitocôndria se dissipe em calor. A alta concentração de citocromo oxidase dessas mitocôndrias bem como a elevada vascularização por capilares contribui para a coloração mais escura das células e do tecido.

O adipócito e o tecido adiposo marrom

O adipócito branco possui um diâmetro médio de 90-100 μm e armazena os triglicerídeos em uma única e grande gota lipídica que ocupa de 85-90% do citoplasma, empurrando o núcleo e uma fina camada de citosol para a periferia da célula. O adipócito marrom é uma célula menor e atinge em média 60 μm de diâmetro. É uma célula caracterizada pela presença de várias gotículas lipídicas citoplasmáticas de diferentes tamanhos, com citoplasma relativamente abundante, núcleo esférico e ligeiramente excêntrico.

* Seminário apresentado pelo aluno CARLOS JUNIOR KIPPERT na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2009. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

O tecido adiposo marrom é um tecido definido com grande vascularização e encontrado em diversas áreas do corpo do animal. Os adipócitos marrons são encontrados em aglomerados sempre envoltos pelo tecido adiposo branco, em graus variáveis entre espécies e até mesmo entre linhagens da mesma espécie. Está localizado nos núcleos interscapular, intercostal, periaórtico, perirrenal, além de encontrar em regiões axilares, cervicais e ventrais (Figura 1).

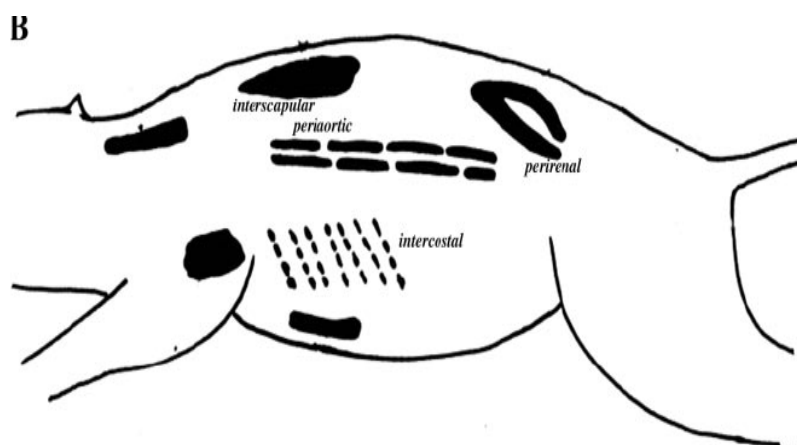


Figura 1. Distribuição do tecido adiposo marrom no corpo

O resultado da termogênese é que uma fração elevada de nutrientes e oxigênio disponível na circulação sanguínea é requisitada pelo tecido e utilizada, levando a um aumento da produção de calor. A participação do tecido adiposo marrom no metabolismo energético total é ao menos substancial em pequenos mamíferos: em temperaturas ambientais normais, aproximadamente metade do metabolismo energético pode ser relacionada à atividade do tecido adiposo marrom e, em condições de baixas temperaturas a energia é predominantemente gasta neste tecido.

A capacidade e atividade do tecido no metabolismo dos animais é alterada por efeito das condições ambientais: ele atrofia-se quando não é necessário e é ativado em situações de afronta por uma elevada e crônica demanda por calor, ou por uma severa restrição nutricional energética ou protéica. A quantidade da UCP-1 nas mitocôndrias do tecido adiposo marrom pode dobrar dependendo do estresse térmico crônico a que o animal é submetido. Porém o stress agudo por frio não leva à ativação da proteína. Nestas condições o animal vale-se de outros mecanismos para aquecer-se, como os tremores. Apenas em situações em que o animal é inserido em um meio com baixa temperatura por alguns dias, é que ocorrerá uma ativação do tecido adiposo marrom.

Respiração e fosforilação oxidativa em uma mitocôndria normal

A cadeia respiratória mitocondrial é composta de várias proteínas que catalisam reações redox de transferência de elétrons a partir de duas coenzimas (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo, ou NADH, e flavina-adenina-dinucleotídeo, ou FADH₂) até o oxigênio molecular. Grande parte da energia liberada nessas reações é utilizada para a fosforilação oxidativa – a síntese de ATP a partir de ADP e fosfato. Em 1949, logo após o desenvolvimento de técnicas que permitiram o fracionamento de células, os bioquímicos norte-americanos Eugene Kennedy e Albert Lehninger isolaram mitocôndrias hepáticas e demonstraram que essa organela é o sítio celular responsável pela síntese de ATP, associada à oxidação dessas coenzimas.

Essa observação deu origem à fase moderna da investigação sobre os mecanismos de conversão de energia em sistemas que consomem oxigênio. Durante cerca de 20 anos houve uma busca infrutífera por um suposto intermediário químico que seria responsável pelo acoplamento entre os dois processos: a respiração e a síntese de ATP. Apesar de evidências crescentes, o papel funcional da membrana mitocondrial foi ignorado por muitos pesquisadores durante essa ‘procura pelo intermediário’. Em 1961, o bioquímico inglês Peter, baseado na constatação de que a redução de oxigênio (O₂) a água (H₂O) pela cadeia respiratória gera um gradiente de prótons (H⁺) entre o meio interno (matriz) da mitocôndria e o espaço entre suas membranas interna e externa, propôs a teoria quimiosmótica da fosforilação oxidativa. Segundo Mitchell, a passagem de elétrons pela série de moléculas envolvidas na cadeia respiratória induz um fluxo de H⁺ da matriz para o espaço intermembranas, desequilibrando a concentração de prótons nos dois espaços. Esse gradiente (ou potencial) eletroquímico de H⁺ seria o ‘intermediário’ rico em energia que acoplaria a respiração à fosforilação. Assim, o fluxo de H⁺ de volta ao interior da mitocôndria, visando restabelecer o equilíbrio, forneceria a energia necessária para a fosforilação do ADP.

Esse potencial eletroquímico de H⁺ tem um componente elétrico (mais negativo internamente) que atinge cerca de 180 mV no estado de repouso, e um componente químico (mais alcalino internamente) que oscila de zero a 0,5 unidade de potencial hidrogeniônico (pH). A enzima ATP-sintetase promove o retorno dos H⁺ à matriz e usa a energia liberada do potencial protônico para fosforilar o ADP. Essa proteína é formada por duas regiões bem distintas: o fator F₁ (solúvel, localizado na matriz) e o fator F₀ (hidrofóbico que atravessa a membrana interna da mitocôndria, onde também se situam os componentes da cadeia respiratória). O fator F₁ contém os sítios ativos (locais de ligação com as moléculas participantes de uma reação – nesse caso, ADP e fosfato inorgânico). O fator F₀ constitui o canal para a passagem de H⁺ e é composto por três tipos de subunidades. Um gradiente eletroquímico entre os dois lados de uma membrana é um elemento central no aproveitamento

de energia em sistemas biológicos. Além disso, esse gradiente pode ser usado diretamente para processos mitocondriais que requerem energia, como o transporte de vários cátions (íons positivos), por exemplo, que penetram na mitocôndria em resposta ao potencial negativo interno.

A figura 2 mostra a relação da UCP-1 com as proteínas transportadoras de elétrons da membrana interna da mitocôndria: (I) NADH desidrogenase; (II) succinato desidrogenase; (III) ubiquinona citocromo C oxirredutase + citocromo C e (IV) citocromo oxidase e a ATP-sintetase (F_0F_1).

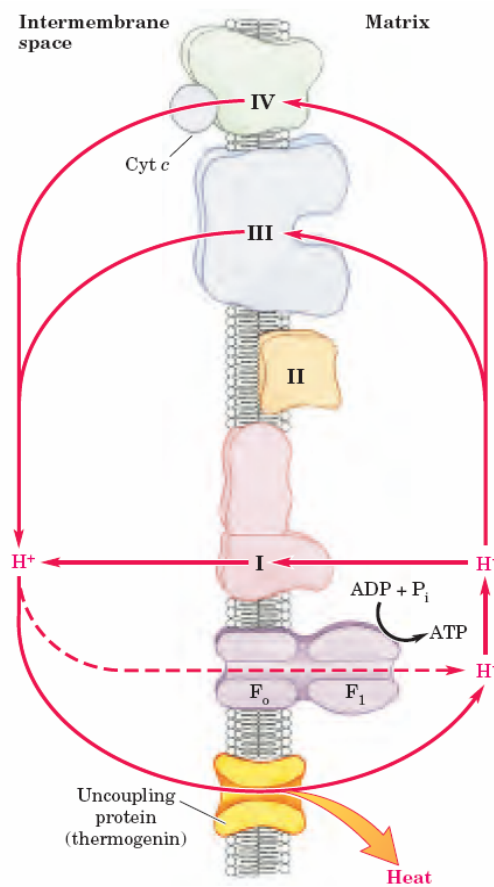


Figura 2. Relacionamento da UCP-1 com as proteínas da cadeia de transferência de elétrons

Mediação nervosa da termogênese

As informações de temperatura corporal, status nutricional e reservas energéticas são provavelmente controlados por uma área cerebral denominada Núcleo Hipotalâmico Ventromedial. Quando ocorre a necessidade de aumentar a taxa de combustão dos nutrientes (redução da eficiência metabólica) ou aumentar a taxa de produção de calor, um sinal individual é enviado via sistema nervoso simpático até o adipócito marrom.

A via de regulação da termogênese inicia a partir do quiasma pré-óptico na área anterior do hipotálamo. Provavelmente o quiasma pré-óptico recebe informações do núcleo supraquiasmático a respeito do fotoperíodo diário e sobre a necessidade na regulação da temperatura corporal, bem como informações sobre a temperatura do sangue. O sinal do quiasma pré-óptico, o qual é inibitório e mediado pelo transmissor GABA, chega ao Núcleo Hipotalâmico Ventromedial. Este sinal após sofrer alterações chega até o nervo pré-ganglionar, liberando acetilcolina na cadeia de nervos simpáticos que liberam a norepinefrina.

Orientados a demonstrar que a norepinefrina é essencial para a termogênese da UCP-1 e verificar se outros mecanismos poderiam conduzir a geração do calor, experimentos conduzidos com adipócitos marrons isolados de ratos onde a UCP-1 foi removida foram conclusivos, e não foi observada nenhuma termogênese pela adição de norepinefrina no meio. Nesta observação adipócitos marrons normais e adipócitos marrons sem a UCP-1 tiveram diferentes taxas de consumo de oxigênio após adição *in-vitro* de norepinefrina (Figura 3-A), configurando diferentes taxas de metabolismo mitocondrial.

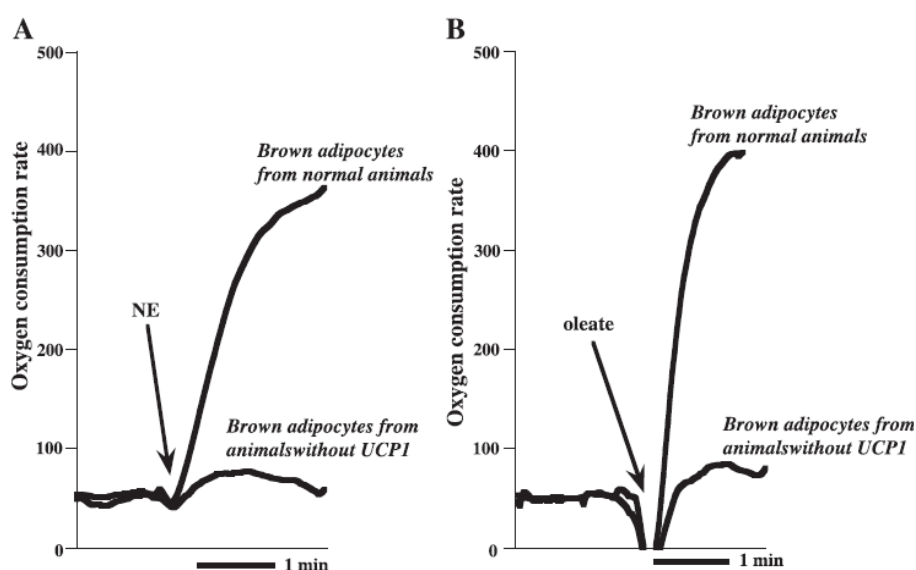


Figura 3. Resposta à norepinefrina e ao oleato em adipócitos de ratos com ou sem UCP-1.

O transmissor envolvido neste processo é a norepinefrina, que inicia a quebra dos triglicerídeos no adipócito, através da ativação dos receptores β_3 -adrenérgicos. O sinal intracelular recebido via receptores β_3 -adrenérgicos é transmitido pelo AMPc e proteína quinase A, levando a produção de ácidos graxos livres a partir dos triglicerídeos, estes são o substrato para a termogênese e (de alguma maneira) os reguladores da UCP-1. Nesta consideração, outra avaliação conduzida *in vitro*, onde houve a adição de ácido oléico (ácido graxo livre) em

solução com adipócitos marrons de ratos normais, ou adipócitos marrons nos quais a UCP-1 foi removida também demonstrou diferentes taxas de consumo de oxigênio (Figura 3-B).

A identificação da UCP-1

Desde a definição de que o tecido adiposo marrom é um órgão termogênico, vários foram os mecanismos moleculares propostos para realizar a termogénia. Estes incluem desde ciclos fúteis em um senso amplo, como um ciclo de esterificação/lipólise ou ativação da Na^+K^- -ATPase, até avançados mecanismos de regulação. Todas estas sugestões sugerem mecanismos ATP dependentes, pois sugerem que o ATP seja formado e então utilizado em uma rota metabólica não produtiva (similarmente como na termogénese muscular por tremor).

Entretanto em observações onde a ATP sintetase era inibida com um macrolídeo (oligomicina) e pela indução da termogénese pela norepinefrina, bem como a sucessiva verificação que a mitocôndria do adipócito marrom possui uma extraordinária baixa atividade da ATP sintetase, levaram a conclusão que o mecanismo de consumo de ATP não poderia ser responsável pelo processo de termogénese no tecido adiposo marrom.

A hipótese alternativa de que sem o ATP formado a oxidação é considerada desacoplada, levou ao cunho da palavra que foi originalmente usada para descrever “um processo oxidativo não acoplado à síntese de ATP”, manifestou por si só a identificação da UCP-1. Posteriormente a isso, houve a identificação de outras proteínas também semelhantes à UCP-1 e classificadas ao menos filogenicamente como UCP's, (UCPs 1 a 5). Uma estrutura semelhante à UCP foi descoberta em plantas e denominada de PUMP (*plant uncoupling mitochondrial protein*), este achado derrubou a tese de que uma proteína desacopladora seria uma aquisição evolutiva de mamíferos, só expressa em tecido adiposo marrom, e estimulou a procura de outras. Hoje, são conhecidas cinco proteínas desse tipo em mamíferos, seis em plantas e outras em fungos, tripanossomas, amebas, peixes e aves.

A UCP-2 é expressa em mitocôndrias de vários tecidos humanos, em especial os ricos em macrófagos (células do sistema imune), e estudos indicam que exerce um papel importante na diabetes mellitus. O gene que a codifica situa-se no cromossomo 11 do homem e no cromossomo 7 de camundongos, em regiões associadas com a hiperinsulinemia (excesso de insulina no sangue) e obesidade. A UCP-3 é expressa em mitocôndrias de músculo esquelético. Sua superexpressão induz emagrecimento e hiperfagia (estado de fome permanente) em camundongos normais. As UCPs 4 e 5 são expressas no cérebro e suas funções ainda são pouco conhecidas. O estudo bioquímico e funcional dessas UCPs é dificultado pela pequena quantidade encontrada nos tecidos onde são expressas.

Estrutura da UCP-1

A UCP-1 é uma proteína mitocondrial carreadora que divide semelhanças com outras proteínas de sua família, incluindo sua estrutura tripartida e a seqüências de aminoácidos. As seqüências destes aminoácidos e resíduos de prolina são de particular interesse para a função da UCP-1. Os resíduos de prolina estão relacionados à ligação de nucleotídeos derivados de guanina ou adenina, que também são encontrados nas proteínas irmãs UCP-2 e UCP-3.

Um outro ponto de particular interesse são as duas seqüências completamente conservadas dentro da UCP-1 que são idênticas em todas as espécies e que não são encontradas em outras proteínas carreadoras de membrana. Estas seqüências estão na metade do circuito central e na parte terminal do grupo COOH, próximo ao citosol (Figura 4). Estas seqüências ainda não tiveram sua função definida.

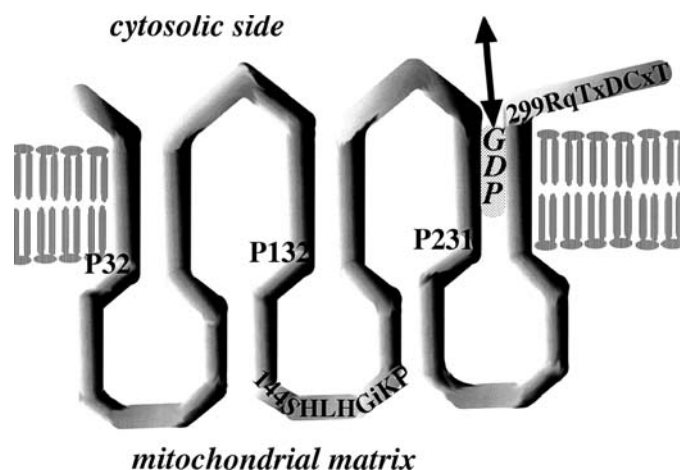


Figura 4. Estrutura da UCP-1.

A reação da produção de calor

A lipólise induzida por norepinefrina é caracterizada pela ativação dos β_3 -receptores da membrana celular na liberação da cascata do AMPc. A ativação da proteína quinase A pelo AMPc leva à ativação do lipase hormônio-sensível (HSL) e fosforilação da perilipina, estes dois processos são essenciais para a realização da lipólise.

As micelas de triglicerídeos do tecido adiposo marrom são recobertas por uma proteína denominada perilipina, que protege o triglicerídeo da ação do HSL. A proteína quinase A ativada fosforila a perilipina, no passo seguinte a micela de triglicerídeo é atacada pelo HSL liberando ácidos graxos livres e glicerol (esta reação somente foi observada no tecido adiposo branco, faltando sua comprovação no tecido adiposo marrom). Concordando com isto,

verificou-se que adipócitos brancos de ratos perilipina-deficientes exibem uma elevada lipólise basal que não pode ser aumentada pela estimulação adrenérgica e, em animais perilipina-deficientes o tecido adiposo marrom apresenta-se com elevada depleção de lipídeos.

Estudos envolvendo camundongos HSL-deficientes mostraram que a atividade lipolítica basal do tecido adiposo marrom não é diminuída. Nestes animais, o adipócito branco e o marrom tornam-se mais repletos de gordura que no adipócito de um camundongo normal, indicando que a lipólise é reduzida. Os animais não são mais sensíveis ao frio, mas isto não é por si só evidência que o tecido adiposo marrom é termogenicamente ativo nestes camundongos, apesar da ausência de HSL. A conclusão mais razoável é que o HSL é responsável e obrigatório na lipólise induzida por norepinefrina em adipócitos marrons.

A lipólise de um triglicerídeo leva a liberação de glicerol e ácidos graxos livres dentro da célula. Embora algum ácido graxo livre possa deixar a célula, a maioria deles é canalizada para o consumo dentro do adipócito. No citosol, eles provavelmente se unirão a proteínas ligantes de ácidos graxos. Similarmente ao adipócito branco, o adipócito marrom possui a forma de proteína ligante A-FABP ou FABP4. Entretanto, possui também a forma encontrada no coração H-FABP, e em contraste com a A-FABP, o gene de expressão da H-FABP é fortemente induzido pela norepinefrina. Pode ser devido a isto que o adipócito marrom possui altos níveis de proteína ligantes de ácidos graxos, concordando com o baixo nível de ácidos graxos livres no citosol, apesar da elevada lipólise encontrada.

Embora muitos ácidos graxos livres podem ser degradados inicialmente nos peroxissomos, a maioria é utilizada nas mitocôndrias. No ambiente mitocondrial ele pode ter duas funções: será o substrato para a termogênese e estará envolvido na regulação e funcionamento da UCP-1.

No adipócito, os ácidos graxos livres são convertidos em acil-CoA pela ação da acilCoA-sintetase e posteriormente transformados em acil-carnitina pela forma muscular altamente expressa da carnitina palmitoil-transferase I (CPT-I). A acil-carnitina provavelmente ingressa na mitocôndria através de transportadores de carnitina e é (re) convertida em acil-CoA pela CPT-II. A β -oxidação resultante dos ácidos graxos (acetil-CoA) bem como a atividade do ciclo do ácido cítrico leva a formação dos carreadores de elétrons reduzidos FADH e NADH, os quais são então oxidados pela cadeia transportadora de elétrons com consumo de oxigênio. Isto resulta no bombeamento dos prótons da mitocôndria e na formação de uma força próton-motiva que dirige os prótons para dentro da matriz mitocondrial através da UCP-1. A energia armazenada na força próton-motiva é então liberada como calor.

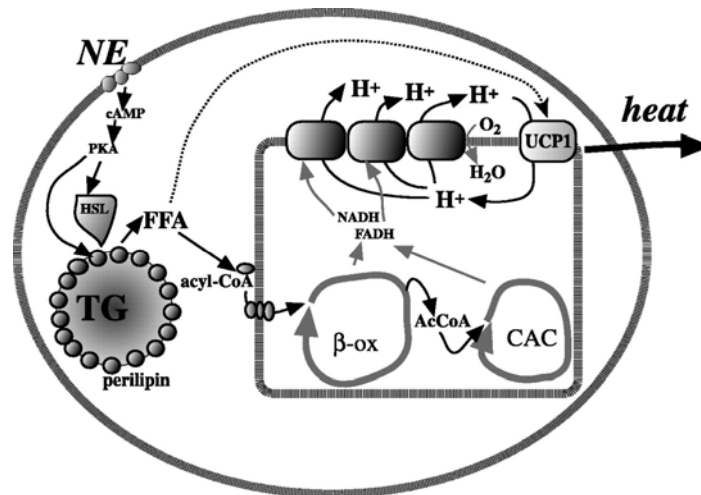


Figura 5. Funcionamento da UCP1.

O aumento da passagem de H^+ através da membrana mitocondrial interna, mediado pelas UCPs, reduz o potencial de membrana apenas o suficiente para que possa haver ao mesmo tempo produção de ATP e de calor (Figura 5). Na verdade, a eficiência da fosforilação oxidativa diminui (menor número de moléculas de ADP fosforiladas, em relação ao de moléculas de oxigênio consumidas). A quantidade de calor liberado depende da quantidade de UCPs e de mitocôndrias nos tecidos e pode não ser o bastante para caracterizar termogênese. No entanto, uma leve redução do potencial de membrana pelas UCPs pode estimular de forma significativa a respiração e em consequência o catabolismo (degradação de nutrientes, como proteínas, ácidos graxos, glicose etc.). Essa talvez seja uma das funções das UCPs 2, 3 e 4, bem como das UCPs de plantas, muito menos abundantes que a termogênica UCP-1.

A ativação da UCP-1

As primeiras observações que isolaram as mitocôndrias do tecido adiposo marrom verificaram que altas taxas de respiração eram encontradas quando estas eram examinadas sob condições nas quais uma mitocôndria normal apresentava baixa taxa de respiração (ex: na presença de substrato oxidável, mas na ausência de ADP), isto indicava que um mecanismo desacoplante existia na mitocôndria no tecido adiposo marrom.

Posteriormente foi identificado que os derivados de guanina ou adenina, como a guanosina-difosfato ou trifosfato (GDP ou GTP) e adenosina-difosfato ou trifosfato (ADP ou ATP) podem ligar-se com alta afinidade, inibindo a permeabilidade de membrana e reacoplando a respiração à fosforilação. Isto levou experimentalmente a identificação um mecanismo regulatório para a ativação desta proteína.

É comumente aceito que a mitocôndria do tecido adiposo marrom, e assim a UCP-1, está exposta em estado latente aos nucleotídeos citosólicos e assim permanecem inativas. Contra

isto, alguns autores definam que os nucleotídeos citosólicos não possuem esta função e que a UCP-1 é inativa através da ausência de um fator necessário: ácidos graxos livres.

Entretanto, apesar de que nas últimas quatro décadas de experimentação com mitocôndrias do tecido adiposo marrom sobrepostas sobre duas décadas de examinação da resposta da UCP-1, ainda não foi atingido um completo e definitivo entendimento do controle do transporte de prótons e o mecanismo para este transporte (que em algumas considerações é a mesma coisa).

O princípio que os ácidos graxos como os próprios derivados destes estão envolvidos na ativação fisiológica da UCP-1 e/ou no mecanismo de transporte é geralmente aceito. A questão é ainda o que exatamente fazem os ácidos graxos. Para esta indagação foram formuladas três hipóteses modelos:

- agem como reguladores alostéricos;
- agem como cofatores;
- agem como lançadeiras de elétrons.

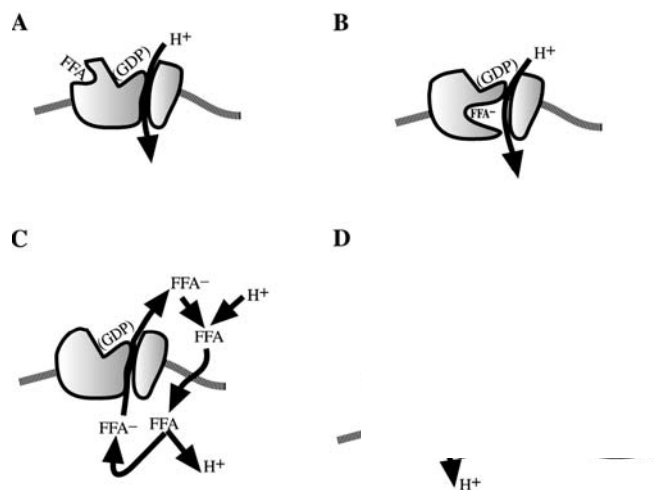


Figura 6. Hipóteses do mecanismo de funcionamento da UCP-1.

Modelo de regulação alostérica

No modelo de regulação alostérica (Figura 6-A), o ácido graxo interage com um sítio de ligação na UCP1, levando a sua ativação. A interação alostérica poderá ser simples, caso o ácido graxo livre puder competir fora do sítio de ligação do nucleotídeo inibidor purínico, ligando a UCP-1 em seu estado latente e desta maneira ativa-la. Entretanto não existem indicações que os ácidos graxos livres possam fazer isto. O derivado de ácidos graxo, acetil-CoA tem a habilidade de competir com a ligação de um nucleotídeo purínico e é sugerido como um competidor para a ativação da UCP-1, mas as evidências fisiológicas para este fato são ainda carentes.

O modelo de cofator

A estrutura da UCP1 sugere que ela não poderia transportar prótons através da membrana da mitocôndria, por não conter grupos carboxila COO^{2-} (onde os prótons se ligam). Assim, esse transporte exige a participação de outra molécula que contenha tais grupos. O modelo proposto pelo bioquímico alemão Martin Klingenberg diz que esses ‘auxiliares’ seriam ácidos graxos, que se ligariam às UCPs e disponibilizariam seus grupos carboxila ao longo do trajeto dos prótons (Figura 7), ou seja, a sua porção ácida funciona então como um “degrau” para os prótons, como uma passagem através da membrana, portanto, sem interação com o sítio de ligação inibitório das purinas. Neste modelo os ácidos graxos livres encontram-se localizados em sítios de ligação dentro do canal de condução de prótons da UCP-1.

Os sítios de ligação intracanal dos ácidos graxos requeridos para este modelo não foram identificados.

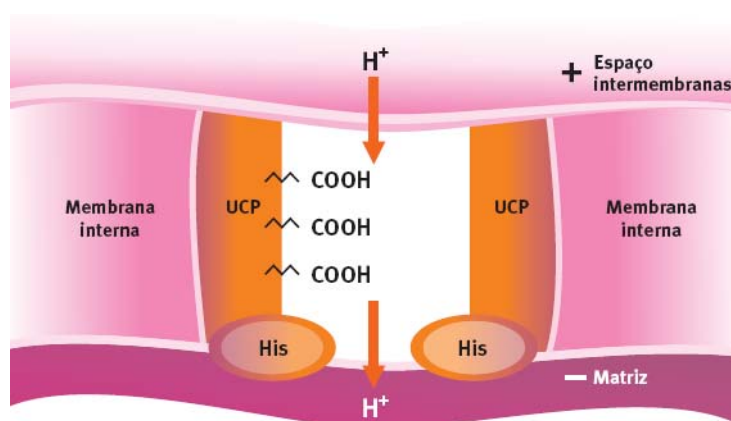


Figura 7. Modelo de Cofator.

Modelo de lançadeiras de ácidos graxos

Na constituição desta teoria, não são os prótons que são transportados pela UCP-1 através da membrana mitocondrial, ao invés, os prótons reingressam na mitocôndria na forma dissociada de ácidos graxos, e o ácido graxo na forma aniônica retira-se da mitocôndria, carregado pela UCP-1. Existe grande evidência que este processo possa ocorrer em um sistema experimental. A teoria tem sido questionada e objeções foram criadas no sentido de uma proposta mais convincente.

Este modelo, proposto pelo bioquímico Keith Garlid, sugere que as UCPs não transportam diretamente os H^+ , mas sim ânions de ácidos graxos. Essa proposta teve como base estudos do bioquímico russo Vladimir Skulachev, em que foi demonstrado que os ácidos graxos protonados penetram rapidamente através da membrana mitocondrial, sem a ajuda de um transportador.

Após dissociação do H^+ na matriz alcalina, os ânions (que, por ter carga, não passam diretamente pela membrana) retornam ao meio externo com a ajuda do carreador de nucleotídeos de adenina (ADP e ATP) presente na membrana mitocondrial interna. Esse carreador, na ausência de seus substratos específicos (ADP e ATP), transporta ácidos graxos negativamente carregados (ânions) para fora da matriz mitocondrial, onde o meio é mais ácido e eles se protonam novamente. A saída dos ânions ocorre devido à atração exercida pelo potencial positivo de prótons no espaço intermembranas (transporte eletroforético). Os ácidos graxos, novamente protonados, voltam ao interior da mitocôndria (atravessando diretamente a membrana) atraídos pelo pH alcalino da matriz. Cada um desses ciclos de entrada do ácido graxo protonado e saída do ânion, deixando o H^+ na matriz, resultam no transporte de um próton (H^+) para a matriz mitocondrial. Baseando-se nesses dados, Keith Garlid e colaboradores testaram e comprovaram a hipótese de que as UCPs, análogos estruturais do carreador de ATP e ADP, são verdadeiros transportadores de ânions de ácidos graxos, e promovem o desacoplamento entre a respiração e a fosforilação oxidativa ao fazer o transporte indireto de H^+ para o interior da mitocôndria através do movimento de entrada/saída de ácidos graxos (Figura 8).

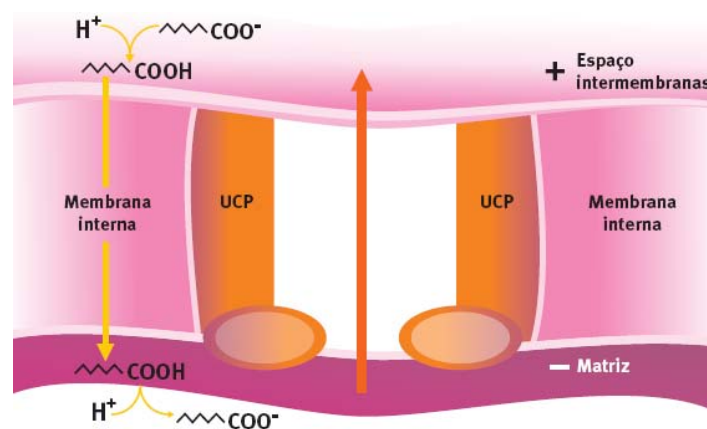


Figura 8. Modelo de lançadeira de elétrons.

Uma das funções do tecido adiposo marrom: hibernação nos mamíferos

Com a aproximação do inverno, as condições ambientais como o frio e a redução do fotoperíodo diário em regiões árticas, levam algumas espécies mamíferas a buscarem uma forma de resistir até o retorno da estação quente. Marmotas, ursos, ratos, morcegos, monotremados, hamsters e outros, são animais que utilizam a hibernação como forma de reduzir

os gastos energéticos, poupando nutrientes e fazendo com que consigam com consumo mínimo de água e alimentos (ou mesmo ausente) atravessar esta adversa fase do ano.

O tecido adiposo marrom foi originalmente observado em animais hibernantes e inicialmente referenciado como “glândula hibernar”. A função fisiológica do tecido adiposo marrom é de importância durante as três fases da hibernação: pré-hibernação; ingresso na hibernação; ciclos do período hibernar e despertar da hibernação.

Fase 1: pré-hibernação

Na maioria dos hibernantes (exceto aqueles que guardam o alimento, como os esquilos), a energia é estocada no corpo na forma de lipídeos antes do início da estação hibernar. Esta engorda pré-hibernar é um fenômeno interessante do ponto de vista fisiológico em muitos aspectos. É uma obesidade fisiologicamente induzida, que por si só poderia ativar o tecido adiposo marrom, e qualquer sinal adipostático (leptina) deve ser diminuído ou uma “resistência à leptina” precisa ser fisiologicamente induzida. O período de hiperfagia pode por si só levar ao reabastecimento do tecido adiposo marrom. Isto poderia então conduzir a uma neutralização na acumulação de lipídeos para uma hibernação, mas é incerto que uma verdadeira ativação da hiperfagia induzida exista.

Durante a fase de preparação existe, entretanto um reabastecimento do tecido adiposo marrom. Na natureza a fase pré-hibernar coincide com a redução da temperatura ambiental e com o fotoperíodo diário, o que pode ser a causa deste reabastecimento, mas experimentos dedicados a avaliar os efeitos de diferentes fatores não obtiveram conclusões satisfatórias. Assim, não é sabido ao certo que a fase de reabastecimento do tecido adiposo marrom na pré-hibernação apresenta um problema regulatório por si só.

A decisão do animal de entrar no estado hibernar sempre necessita de um período de aclimatação e é provável que a hibernação não possa ocorrer se o estado de reabastecimento do tecido adiposo marrom não seja suficientemente alto. Como isto é avaliado pelo animal também não é conhecido.

Fase 2: Ingresso na hibernação

Durante a hibernação profunda, o tecido adiposo marrom é inativado com a ligação da GPD no sítio da UCP-1, ocorrendo uma alteração na ultraestrutura mitocondrial do adipócito. Sua inativação é provavelmente coincidental e não requer um mecanismo regulatório específico.

Devido ao fato que a regulação da temperatura não é ‘desligada’ durante a hibernação, mas ao fato que sua regulação desce a temperatura próxima de 5°C e porque os hibernantes possuem a temperatura nesta amplitude, nenhum calor extra é necessário para manter o corpo ajustado nesta temperatura. Se, entretanto, a temperatura do ambiente é reduzida a 0°C ou abaixo, o

hibernante poderá aumentar a temperatura corporal através da termogênese no tecido adiposo marrom, mesmo em estado de hibernação profunda.

Fase 3: Ciclos do período hibernar e despertar da hibernação

Na hibernação, durante o período de despertar é que o tecido adiposo marrom tem sua maior importância fisiológica. Hibernantes podem aquecer-se à eutermia mesmo quando a temperatura do ambiente mantiver-se extremamente baixa. A ativação do tecido adiposo marrom nesta fase é evidenciada pela mobilização e depleção das reservas lipídicas e especialmente por um grande aumento da temperatura do tecido adiposo marrom, que nesta fase pode exceder a temperatura retal em 14°C. Durante a fase de despertar o hibernante usará todos os mecanismos termogênicos para atingir a eutermia. Em baixas temperaturas, o tremor pode não aparecer, mas quando a temperatura corporal chega próxima de 16°C, hamsters sírios começam a tremer intensivamente, no entanto, morcegos podem despertar sem nenhuma contribuição dos tremores.

Na hibernação, a produção de calor no adipócito marrom é 30 vezes mais baixo que aos 37°C, e isto é surpreendente quando se pensa que este calor irá aquecer um animal contra um gradiente de temperatura. Inicialmente o calor produzido é um processo local de auto-reforço, onde o tecido aquece-se por si próprio. No entanto, em razão de elevada demanda por calor, o sangue é aquecido pela grande atividade da UCP-1 local, levando por conseqüência a um aumento total da temperatura corporal. Desta forma os tremores não ocorrem durante a hibernação, e o calor produzido pelo tecido adiposo marrom é essencial para despertar os mamíferos hibernantes.

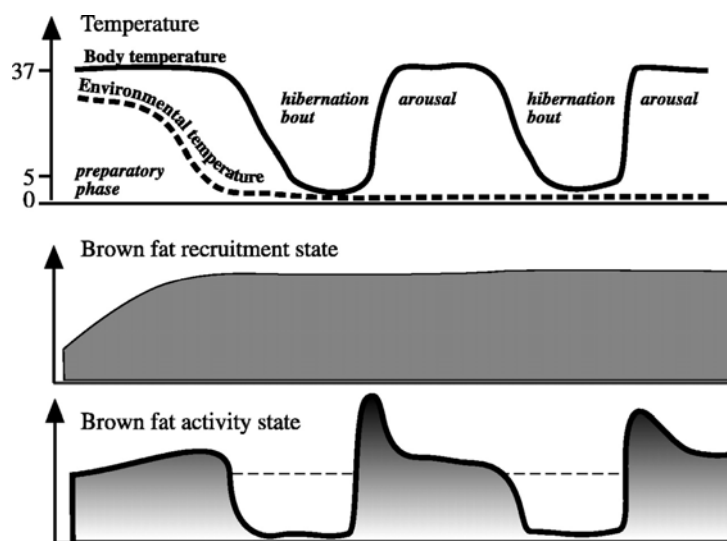


Figura 9. Relação entre o ciclo hibernar e o tecido adiposo marrom.

As mudanças induzidas pela hibernação na temperatura corpórea, no reabastecimento do tecido adiposo marrom e seu status de atividade são verificadas na Figura 9. Durante a fase preparatória, ocorre um aumento do reabastecimento da gordura marrom, o que pode levar meses, enquanto que cada ciclo hibernal mais o ciclo de despertar poderão durar aproximadamente uma semana, dependendo das condições ambientais. No último gráfico da figura 9, é possível verificar que a atividade da gordura marrom atinge seu pico apenas no despertar e durante o tempo em que o animal permanecer desperto na hibernação (devido às baixas temperaturas), na fase hibernal, propriamente dita, a atividade é muito pequena.

O fotoperíodo na fisiologia do tecido adiposo marrom

O baixo fotoperíodo diário possui por si só um efeito de mobilização para estocagem de lipídeos no tecido adiposo marrom, independente do efeito do frio.

Na natureza, o baixo fotoperíodo é uma antecipação do inverno, então este reabastecimento do tecido adiposo marrom faz total sentido do ponto de visto fisiológico. Estudos tradicionais são conduzidos quase que exclusivamente com hamsters sírios (hibernantes), hamsters siberianos (demonstram torpor em fotoperíodo positivo), ratos e camundongos, animais que parecem mostrar pequena sensibilidade ao fotoperíodo negativo.

Respostas ao fotoperíodo são esperadas pela mediação da melatonina, liberada pela glândula pineal durante a escuridão, que pode ser mimetizada pela injeção de melatonina em animais mantidos em condição de claridade total diária. É esperado desta forma que a pinealectomia poderia deixar estes animais insensíveis para o fotoperíodo negativo, mas surpreendentemente não é o que ocorre. O mecanismo de reabastecimento do tecido adiposo marrom induzido pela melatonina não é conhecido. Pode ser um mecanismo central e assim associado com o aumento da estimulação simpática e redução da eficiência metabólica. Alternativamente, pode ter um efeito direto no adipócito marrom. Receptores para melatonina foram descritos neste tecido e podem possuir um efeito direto na expressão do gene. Entretanto não existe um efeito estimulatório da melatonina, como por exemplo, no aumento dos níveis do AMPc e por consequência na termogênese induzida por ela.

Referências bibliográficas

- CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews*. v.84, p. 277-359, 2004.
- COUSIN, B.; CINTI, S.; MORRONI, M.; et al. Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *Journal of Cell Science*. n. 103, p. 931-942, 1992.
- DEPIERI, T.; PINTO, R. R.; CATARIN, J. K.; et al. UCP-3: Regulação da expressão gênica no músculo esquelético e possível relação com o controle do peso corporal. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo*. v.48, n.3, p. 337-344, 2004.
- FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; et al. O tecido adiposo marrom como centro regulador do metabolismo. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo*. v.50, n.2, p. 216-227, 2006.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. *Principles of biochemistry*. 4.ed. Worth Publishers. 2005. 1119 p.
- MORENO, M.; PUIGSERVER, P.; LLULL, J.; et al. Cold exposure induces different uncoupling-protein thermogenin masking/unmasking process in brown adipose tissue depending on mitochondrial subtypes. *Biochemistry Journal*. n. 300, p. 463-467, 1994.
- VERCESI, A. E. Mitocôndria: ATP, calor e morte celular. *Ciência Hoje*, v.34, n.199, p. 16-23, 2003.