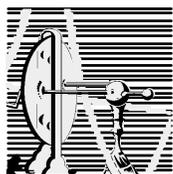


Álvaro Souto Padrón de Figueiredo

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE
3,5-DIIODOTIRONINA OU DA RESTRIÇÃO
ALIMENTAR DURANTE A GÊNESE DO
SOBREPESO EM RATOS WISTAR**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO À OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (FISIOLOGIA)



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Álvaro Souto Padrón de Figueiredo

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE
3,5-DIIODOTIRONINA OU DA RESTRIÇÃO
ALIMENTAR DURANTE A GÊNESE DO
SOBREPESO EM RATOS WISTAR**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro visando à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas (Fisiologia).

Orientadora: Prof^a. Denise Pires de Carvalho

Rio de Janeiro

2008

Padrón, Álvaro Souto

Efeitos da administração crônica de 3,5-diiodotironina ou da restrição alimentar durante a gênese do sobrepeso em ratos Wistar.

Rio de Janeiro, UFRJ/IBCCF, 2008.

xi, 79 fls.

Orientadora: Prof^a. Denise Pires de Carvalho

Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas (Fisiologia)

- 1- 3,5-diiodotironina
- 2- Restrição alimentar

Álvaro Souto Padrón de Figueiredo

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE 3,5-DIIODOTIRONINA OU DA
RESTRIÇÃO ALIMENTAR DURANTE A GÊNESE DO SOBREPESO EM RATOS
WISTAR

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO VISANDO À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (FISIOLOGIA)

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 2008

Professora Doutora Cristiane del Corso - IBCCF/UFRJ

Professora Doutora Magna Cottini Passos - UERJ

Professora Doutora Maria Lúcia Fleuiss Farias - HUCFF

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Endócrina Doris Rosenthal do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob orientação da professora Denise Pires de Carvalho, com o apoio das seguintes instituições:

Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior (CAPES);
Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ);
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);
Programa de Apoio a Núcleos de Excelência - Consórcio CNPq/FAPERJ/Finep (PRONEX).

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Denise Pires de Carvalho por acreditar em mim e ter concedido a oportunidade de ser seu aluno, compartilhando seu conhecimento e suas maravilhosas idéias.

A minha família por te me apoiado durante todo o duro processo de seleção e também ao longo de todo o mestrado.

A minha namorada Tatiane Cozendey por todo seu apoio, atenção e companheirismo nesta fase de conclusão do mestrado.

A todos meus amigos de laboratório que me apoiaram e ajudaram desde o meu ingresso no mesmo, em especial a Renata Lopes Araujo, Bruno Moulin de Andrade, Monique Leandro, Thiago Pantaleão, Wagner, que estiveram de forma mais presente ao meu lado auxiliando na execução do meu projeto.

Ao amigo Marco Aurélio, que apesar de não ser do mesmo laboratório, teve importante colaboração durante meu projeto, e principalmente sempre mostrou-se disposto a ajudar e passar seus conhecimento com grande satisfação.

Aos amigos Ramón Peçanha, Ricardo Luzardo, Daniel Lacks, pelas inúmeras horas de estudo juntas durante a seleção, que foram fundamentais para alcançar o objetivo de ingressar no mestrado.

RESUMO

Padrón, Álvaro Souto. Efeitos da administração crônica de 3,5-diiodotironina ou da restrição alimentar durante a gênese do sobrepeso em ratos wistar. Rio de Janeiro, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Fisiologia) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Na maioria das espécies de mamíferos, o balanço energético e a taxa metabólica basal (TMB) se modificam com o envelhecimento, predispondo o ganho de peso. Ratos Wistar desenvolvem sobrepeso e resistência insulínica, naturalmente, durante o envelhecimento. Recentemente, um metabólito derivado da desidiação do T3, na posição 3' (3,5-diiodotironina; 3,5-T2), tem sido relacionado ao controle do gasto energético em ratos hipotireóideos, e demonstrou impedir o ganho de peso em ratos submetidos à dieta hipercalórica, sem causar nenhum efeito colateral. Sendo assim, procuramos investigar e comparar os efeitos da restrição alimentar de 40% (RA-40%) e do tratamento diário com 3,5-T2 (25, 50 e 75µg/100g p.c.), em ratos Wistar machos, durante o desenvolvimento da resistência insulínica e do sobrepeso (dos 3 aos 6 meses de idade). Os ratos com 6 meses de idade eram significativamente mais pesados e apresentaram maior conteúdo de gordura retroperitoneal do que os animais com 3 meses de idade. Embora o tratamento com 3,5-T2 tenha sido capaz de reduzir significativamente o ganho de peso, a restrição alimentar foi a abordagem mais eficaz para o controle do peso, de forma que a massa corporal dos animais em RA aos 6 meses de idade diminuiu significativamente se comparado ao seu grupo controle. A restrição alimentar reduziu significativamente tanto o conteúdo de gordura retroperitoneal quanto epididimal. O envelhecimento promoveu resistência insulínica, e tanto a restrição alimentar quanto o tratamento com 3,5-T2 normalizaram a intolerância à glicose. O tratamento com 3,5-T2 promoveu redução significativa nos níveis séricos de T3 e T4 de forma dose dependente, enquanto a RA durante o período de 3 meses não alterou as concentrações de T3 nem de T4 com relação aos animais de 6 meses. Apesar dos níveis reduzidos dos hormônios tireóideos, o consumo de oxigênio nos grupos tratados com 3,5-T2 não diferiu do grupo controle, indicando uma ação estimuladora do 3,5-T2 sobre o consumo de oxigênio. Embora o tratamento com 3,5-T2 tenha sido eficaz em reduzir o ganho de peso e a resistência insulínica durante o envelhecimento, o mesmo gerou hipertrofia cardíaca na maior dose. Nossos resultados põem em questão a utilização desse metabólito dos hormônios tireóideos para impedir o ganho de peso, devido aos possíveis efeitos adversos cardíacos, além das influências indesejáveis sobre o eixo tireoidiano.

ABSTRACT

Padrón, Álvaro Souto. Effect of the cronic administration of 3,5- diiodothyronine or food restriction during the genesis of overweight in Wistar rats. Rio de Janeiro, 2008. Dissertation (Master of Sciences in Biology - Physiology) - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

In most mammalian species energy balance and resting metabolic rate (RMR) change with aging, predisposing weight gain. Male Wistar rats naturally develop overweight and insulin resistance during aging. Recently, a metabolite derived from the 3' deiodination of T3 (3,5-diiodothyronine; 3,5 T2) has been involved in the control of energy expenditure in hypothyroid rats, and was shown to impair weight gain in animals submitted to high fat diet, while not causing undesirable cardiac effects. Thus, we aimed to investigate and compare the effects of 40 % food restriction (FR-40%) and 3,5 T2 (25, 50 and 75µg/100g body weight) daily administration in male Wistar rats during the development of insulin resistance and overweight (from the age of 3 to 6 months of life). Rats of 6 months-old were significantly heavier and had a higher retroperitoneal fat content than 3 months-old rats. Although 3,5-T2 treatment has been able to significantly impair weight gain, food restriction was the most effective approach to control the weight, so that the body mass of animals in FR at 6 months of age decreased significantly when compared to its control group. Food restriction significantly reduced retroperitoneal and epididymal fat pads. Aging promoted insulin resistance, and both food restriction and 3,5 T2 treatment normalized insulin resistance. In 3,5-T2 treated animals serum T3 and T4 were significantly decreased in a T2 dose dependent manner, while food restriction for 3 months has not changed serum T3 and T4 levels. Despite the low levels of thyroid hormones, oxygen consumption in the 3,5-T2 treated group did not differ from the control group, suggesting the action of 3,5-T2 as maintaining direct stimulator of oxygen consumption. The higher dose of T2 significantly increased heart weight. Although 3,5-T2 treatment was effective in impairing body mass gain and insulin resistance during aging, it led to heart hypertrophy. Our data brings into question the therapeutic use of this thyroid hormone metabolite to impair weight gain, due to its possible cardiac side effects, besides undesirable influence on the thyroid axis.

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

3,3'-T2	3,3'-diiodotironina
3,5-T2	3,5-diiodo-L-tironina
ADP	Difosfato de adenosina
ATP	Trifosfato de adenosina
BAT	Tecido adiposo marrom
COX	Citocromo c oxidase
CPT	Carnitina palmitoil-transferase
D2	Desiodase tipo 2
DuOx	Oxidase dual tireóidea
GLUT4	Transportador de glicose tipo 4
HgbA1c	Hemoglobina glicosilada
HT	Hormônios tireóideos
IMC	Índice de massa corporal
Kg	Quilogramas
m	Metros
MHC	Cadeia pesada de miosina
NIS	Co-transportador sódio-iodeto
PTU	Propiltiouracil
rT3	T3-reverso
RA	Restrição alimentar
RIE	Radioimunoensaio
SNS	Sistema nervoso simpático
TSH	Tireotrofina ou hormônio estimulador da tireóide
T2	Diiodotironinas
T3	3,5,3'-triiodo-L-tironina
T4	3,5,3',5'-tetraiodotironina, tiroxina
TA	Termogênese adaptativa
TF	Termogênese facultativa
Tg	Tireoglobulina
TMB	Taxa metabólica basal
TO	Termogênese obrigatória
TPO	Peroxidase tireóidea
TRH	Hormônio liberador de tireotrofina
TR	Receptores dos hormônios tireóideos
Tyr	Tirosila
UCP1	Proteína desacopladora-1
UCP2	Proteína desacopladora-2
UCP3	Proteína desacopladora-3

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	
1.1 SOBREPESO	1
1.2 CLASSIFICAÇÃO DO SOBREPESO EM SERES HUMANOS	1
1.3 CONSEQÜÊNCIAS MÉDICAS DO SOBREPESO	3
1.4 TIREÓIDE, SEUS HORMÔNIOS E A TAXA METABÓLICA	6
1.5 COMPONENTES DO GASTO ENERGÉTICO DIÁRIO	10
1.6 UCPs, HORMÔNIO TIREÓIDEO E O GASTO ENERGÉTICO	13
1.7 HORMÔNIO TIREÓIDEO E TERMOGÊNESE EM MÚSCULO ESQUELÉTICO	16
1.8 DIIODOTIRONINAS E FUNÇÃO TIREÓIDEA	18
1.9 HORMONIOS TIREÓIDEOS E RESISTÊNCIA INSULÍNICA	26
1.10. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	29
2. OBJETIVO	
2.1 OBJETIVO GERAL	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3. METODOLOGIA	
3.1 ANIMAIS	32
3.2 TRATAMENTO COM T2	32
3.3 RESTRIÇÃO ALIMENTAR	33
3.4 CONTROLE DO PESO CORPORAL E INGESTÃO ALIMENTAR	34

3.5	CURVA GLICÊMICA	34
3.6	CONSUMO DE OXIGÊNIO	34
3.7	SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS	35
3.8	ANÁLISES	36
3.8.1	RADIOIMUNOENSAIO (RIE)	36
3.8.1.1	T3 e T4	36
3.8.1.2	TSH	37
4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5.	RESULTADOS	39
5.1	PESO CORPORAL, DAS GORDURAS EPIDIDIMAL, RETROPERITONEAL E DO CORAÇÃO	39
5.2	CONCENTRAÇÕES SÉRICAS HORMONAIIS	44
5.3	CONSUMO DE OXIGÊNIO	47
5.4	TOLERÂNCIA A GLICOSE	49
6.	DISCUSSÃO	50
7.	CONCLUSÕES	63
8.	REFERÊNCIAS	65

1. INTRODUÇÃO

1.1. SOBREPESO

O termo epidemia é comumente usado para descrever o aumento nas taxas de sobrepeso nos Estados Unidos, e em todo o mundo, que se iniciou na década de 80 nos Estados Unidos e continua crescendo hoje em dia por todas as partes do mundo (Hill, 2006). O aumento na prevalência do sobrepeso que foi evidenciado na maioria dos países ocidentais, especialmente nos Estados Unidos da América, desde o começo dos anos 80 afetou não somente adultos, mas também as crianças. A América Latina é similarmente afetada, e os países asiáticos e africanos estão também apresentando alterações drásticas, com rápido aumento na prevalência da obesidade associada à diabetes tipo 2 (James, 2008).

Segundo a organização mundial de Saúde, aproximadamente 1.6 bilhões de adultos (maiores de 15 anos) no mundo encontram-se na faixa de sobrepeso, e pelo menos 400 milhões são obesos. Antes considerado um problema somente nos países de alta renda, o sobrepeso e a obesidade estão agora dramaticamente aumentados em países de baixa e média renda, principalmente nos locais urbanos.

1.2. CLASSIFICAÇÃO DO SOBREPESO EM SERES HUMANOS

A Organização Mundial de Saúde, em 1995, aceitou o índice de massa corporal (IMC) como um método apropriado para avaliar graus de baixo peso e sobrepeso em seres humanos (James, 2008). Esse índice é determinado pela divisão do peso, em quilogramas (Kg), pelo quadrado da altura, em metros (m), conforme apresentado na figura 1.

$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso (Kg)}}{\text{Altura}^2 \text{ (m)}}$$

Figura 1 - Fórmula para calcular o IMC.

O cálculo e os valores do IMC não são dependentes da idade e são os mesmos para ambos os sexos (WHO, 1995).

A prevalência de comorbidades está positivamente correlacionada a IMC elevado, incluindo-se doenças como: diabetes, hipertensão, cálculo biliar e doenças cardiovasculares (James, 2004). A classificação do baixo peso, sobrepeso e obesidade está descrita na tabela 1.

Classificação	IMC(kg/m²)
	Pontos de corte
Baixo Peso	<18.50
Magreza Severa	<16.00
Magreza Moderada	16.00 - 16.99
Magreza Leve	17.00 - 18.49
Normal	18.50 - 24.99
Sobrepeso	≥25.00
Obeso	≥30.00
Obeso classe I	30.00 - 34.99
Obeso classe II	35.00 - 39.99
Obeso classe III	≥40.00

Tabela 1 - Classificação internacional de baixo peso, sobrepeso e obesidade para adultos de acordo com IMC (adaptado da OMS 2008).

1.3. CONSEQÜÊNCIAS MÉDICAS DO SOBREPESO

O sobrepeso e a distribuição da gordura corporal na região abdominal têm sido relacionados com maior formação de placa de ateroma e aterosclerose. Existem diversos outros fatores de risco para doenças coronarianas que estão associados com a obesidade, incluindo diabetes, resistência insulínica, dislipidemia, hipertensão, hipertrofia do ventrículo esquerdo, disfunções endoteliais, inflamação crônica e apnéia obstrutiva do sono (Wilborn e cols. 2005).

Muitos estudos indicam que a perda de peso em indivíduos obesos e com sobrepeso melhora os fatores de risco para doenças coronarianas (Letiexhe e cols.

1994; Mavri e cols. 2001; Giltay e cols. 1999). A perda de peso tem também demonstrado melhorar anormalidades cardiovasculares, tal como hipertrofia do ventrículo esquerdo, tanto em adultos como adolescentes (Chi e cols. 1986).

Aproximadamente 85% dos casos de diabetes são do tipo 2 e destes, 70% tem sobrepeso. Tem sido descrito que a prevalência da diabetes tipo 2 é aproximadamente 5 vezes maior para homens e 8.3 vezes maior para mulheres obesos comparados com indivíduos de peso normal. Além disso, um ganho de 7.0 - 10.9 kg no peso após os 18 anos duplica o risco de desenvolvimento de diabetes (Wilborn e cols. 2005).

Tem sido demonstrado que a obesidade, especialmente a central, está associada com a diabetes. A relação cintura - quadril é freqüentemente utilizada para determinar a presença de obesidade central, porém parece que a circunferência abdominal pode ser um melhor indicador de resistência insulínica e obesidade central do que a razão cintura - quadril. A obesidade leva à resistência insulínica, que pode ser atribuída em parte pelo concomitante aumento dos níveis circulantes de ácidos graxos livres. Adicionalmente, intolerância à glicose está também mais associada com a obesidade central. A perda de 5 - 10% do peso corporal inicial melhora significativamente os valores de hemoglobina glicosilada (HgbA1c), diminui a pressão sanguínea e melhora o perfil lipídico (Finer e cols. 2000; Williams e cols. 1998). Se a perda de peso não é possível através de métodos convencionais, intervenção farmacológica e cirurgia podem ser eficazes (Williams e cols. 1998).

A complexidade da regulação do peso corporal representa um desafio substancial para o entendimento da etiologia do sobrepeso e para o desenvolvimento

de estratégias para o seu tratamento e/ou prevenção. O estabelecimento do sobrepeso depende de como o corpo regula a ingestão energética, gasto energético, e o armazenamento de energia (balanço energético). Aumentos na taxa de sobrepeso refletem um estado de balanço energético positivo, e o tratamento/prevenção da obesidade devem envolver algumas modificações no balanço energético. Um melhor entendimento de como o balanço energético é regulado, em particular, como fatores biológicos, comportamentais e ambientais interagem para afetar o balanço energético e a regulação do peso corporal ajudará no desenvolvimento de estratégias efetivas para prevenção e tratamento do sobrepeso (Hill, 2006).

Todos os animais, incluindo os seres humanos, têm um sistema biológico que funciona normalmente estabelecendo o equilíbrio entre a ingestão e o gasto energético, visando o controle do peso corporal. Em seres humanos, o peso corporal permanece estável durante longos períodos de tempo, independente de variações na ingestão ou gasto diário de energia (Tarasuk e Beaton, 1991).

Evidências dessa regulação biológica podem ser comprovadas, pois manipulando-se um componente do balanço energético (ingestão energética) produz--se mudanças compensatórias em outros componentes. Por exemplo, a restrição energética produz diminuição no gasto energético (Hill e cols. 1987; Heyman e cols. 1992). Interessantemente, a regulação do balanço energético pode ser direcionada de maneira que o balanço energético negativo parece ser mais fortemente contra-regulado do que o balanço energético positivo. A superalimentação, por exemplo, produz muito menos alterações compensatórias no gasto energético do que a restrição alimentar (Hill e cols. 1987; Diaz e cols. 1992). Na

essência, nosso organismo é equipado para proteger-nos mais intensamente contra a perda do que contra o ganho de peso (Hill, 2006).

1.4. TIREÓIDE, SEUS HORMÔNIOS E A TAXA METABÓLICA

A síntese dos hormônios tireóideos (HT) é realizada pela glândula tireóide que se localiza abaixo da cartilagem cricóide e é composta por dois lobos unidos por um istmo, estando aderida às regiões anterior e lateral da laringe e da traquéia. O iodo é essencial para a biossíntese hormonal, sendo necessário que esteja disponível em concentrações adequadas para que quantidades normais de hormônios sejam sintetizadas pelas células foliculares da glândula tireóide (Larsen e cols. 2002). O iodeto proveniente da dieta é absorvido no trato gastro-intestinal, e é captado pela tireóide a partir da corrente sanguínea, através de um transportador específico existente na membrana basolateral dos tireócitos, o co-transportador sódio-iodeto (NIS, Na⁺/ I- Symporter) (Dohan e cols. 2003). O transporte de iodeto através do NIS, que é um passo fundamental para a biossíntese dos hormônios tireóideos (Eskandari e cols. 1997), é estimulado pelo hormônio adeno-hipofisário tireotrofina (TSH). Além da concentração sérica de TSH, o transporte de iodeto é também regulado pelo mecanismo de auto-regulação do tireócito, no qual a atividade do NIS varia inversamente com o conteúdo glandular de iodo (Eng e cols. 1999; Ferreira e cols. 2005). A carência de iodo provoca depleção dos estoques tireóideos de iodo, com diminuição da produção diária de T₄. A queda dos níveis sanguíneos de T₄ desencadeia um aumento na secreção de TSH, que aumenta a atividade da tireóide, podendo gerar hiperplasia da glândula (bócio) (Stanbury e cols. 1954 apud Hetzel e

Dunn, 1989)

A biossíntese hormonal é dependente, além da disponibilidade de iodo na região apical da célula folicular, da síntese adequada de tireoglobulina (Tg) e de enzimas envolvidas na incorporação do iodo a resíduos tirosila (Tyr) da molécula de Tg, etapa denominada organificação do iodo. A principal enzima relacionada à biossíntese hormonal é a peroxidase tireóidea (TPO). Dados da literatura indicam que a TPO é a responsável pela oxidação do iodeto e sua incorporação aos radicais tirosila da molécula de Tg (Larsen e cols., 2002).

O H_2O_2 é essencial na reação de oxidação do iodeto catalisada pela TPO e, quando os níveis intracelulares de iodeto são suficientes, a geração de H_2O_2 passa a ser o passo limitante na biossíntese dos hormônios tireóideos (Corvilain e cols. 1988). A enzima responsável pela geração tireóidea de peróxido de hidrogênio foi caracterizada em tireóides humanas e, posteriormente, clonada, tendo sido denominada oxidase dual tireóidea (DuOx, dual oxidase) (Dupuy e cols. 1999; De Deken e cols. 2000).

A glândula tireóide produz principalmente duas iodotironinas: 3,5,3',5'-tetraiodotironina, considerada um pró-hormônio (tiroxina ou T4), e 3,5,3'-triiodo-L-tironina, o hormônio biologicamente ativo (T3). Entretanto, também produz pequenas quantidades de outra iodotironina inativa [T3-reverso (rT3)]. A glândula tireóide é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireóide. O controle da síntese e secreção dos hormônios tireóideos é exercido por uma clássica alça de retroalimentação: em resumo o hormônio liberador de tireotrofina (TRH), produzido predominantemente pelos neurônios do núcleo paraventricular hipotalâmico,

estimula a síntese e liberação do TSH pela hipófise, e este por sua vez estimula a síntese e liberação dos hormônios tireóideos. O aumento das concentrações sanguíneas dos HT inibe a produção tanto de TSH quanto de TRH, levando a diminuição do estímulo da função tireóidea. Por outro lado, a diminuição dos níveis sanguíneos dos HT retira o sinal de *feedback* negativo, e o sistema é ativado novamente. (Silvestri e cols. 2005; Bassett e Williams, 2008). (Figura 2)

Em adultos, o principal efeito biológico dos hormônios tireóideos é acelerar o gasto energético. Em pacientes com severo hipotireoidismo, o gasto energético corporal total pode cair aproximadamente 50%; em pacientes com tireotoxicose, o mesmo pode aumentar mais de 50%, totalizando aproximadamente uma indução três vezes acima da linha de base dos hipotireóideos. Entretanto, como os níveis séricos dos hormônios tireóideos são notavelmente estáveis sob condições normais, não é evidente como os hormônios tireóideos modificam o gasto energético sob condições fisiológicas (Bianco e cols. 2005).

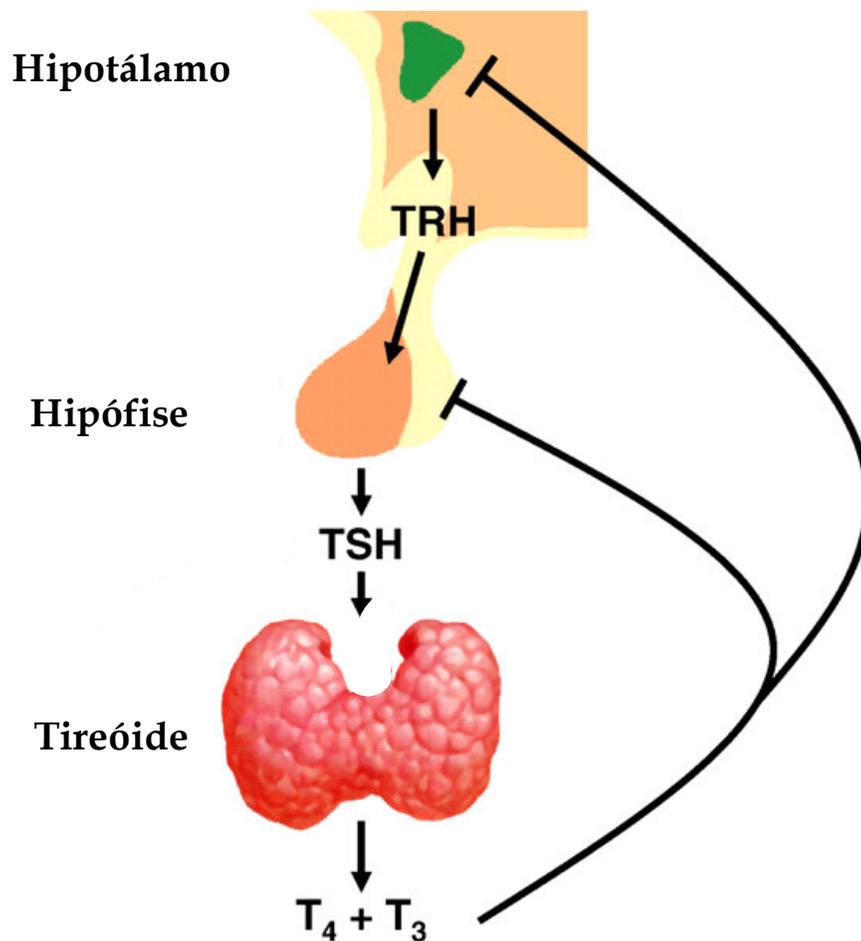


Figura 2 - Eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, ilustrando a alça de retroalimentação negativa, que regula a síntese e liberação dos HT. Adaptado de Bassett e Williams, 2008.

Em Roedores, e outros pequenos mamíferos o gasto energético é controlado por um aumento da enzima iodotironina desiodase tipo 2 (D2) no tecido adiposo marrom (BAT), que aumenta a síntese intracelular de T₃, desta forma saturando completamente os receptores dos hormônios tireóideos, criando assim um estado de tireotoxicose tecido específico. Na ausência da indução da D2, camundongos desenvolvem hipotermia quando expostos ao frio, confirmando o crítico papel dependente da D2 na produção adaptativa de T₃ (Bianco e cols. 2005). Entretanto, em

seres humanos adultos o maior sítio adaptativo de gasto energético é o músculo esquelético. Sendo já descrito por Salvatore e cols. (1996) e Croteau e cols. (1996), a expressão de D2 no músculo esquelético; podendo ser este um determinante do gasto energético em seres humanos, de forma similar ao ocorrido no BAT de roedores (Mentuccia e cols. 2002; Scheidegger e cols. 1984).

1.5. COMPONENTES DO GASTO ENERGÉTICO DIÁRIO

Para se entender o espectro global dos efeitos relacionados aos hormônios tireóideos na homeostase energética, é importante definirmos os principais componentes do gasto energético. A taxa metabólica é a soma total de toda energia consumida ou gasta ocorrida em um sistema (máquina, vegetal, ou animal) em qualquer unidade de tempo. A mínima energia gasta que permite funcionamento normal é chamada de taxa metabólica basal (TMB). Em animais, a TMB é a energia necessária para sustentar as mínimas funções homeostáticas como avaliado na condição de repouso, após 12 horas de jejum, em um indivíduo completamente relaxado, mantido em temperatura de termoneutralidade. A TMB inclui várias formas biológicas de trabalho, no qual a maior categoria são os ciclos iônicos e de substratos, particularmente nos tecidos excitáveis e também no rim; ciclos metabólicos, particularmente no fígado, músculo, e tecido adiposo; batimentos cardíacos, movimentos respiratórios, tônus vasomotor, peristaltismo e secreções basais de glândulas exócrinas e glândulas anexas do trato intestinal (Bianco e cols. 2005).

A transformação de energia gera calor e a transformação de energia inerente

à vida também gera calor (Else e cols. 1981). A manutenção da quantidade de ATP que abastece a TMB resulta em substancial produção de calor, que é conhecida como termogênese obrigatória (TO). Isto inclui a termogênese induzida pela dieta conseqüente da digestão e absorção dos alimentos (Mozo e cols. 2005). A liberação de calor é explicada pela intrínseca ineficiência termodinâmica da transformação de energia. Em animais, o calor aumenta a temperatura corporal e as reações enzimáticas assim como as funções biológicas operam otimamente. Em geral, quanto maior taxa metabólica, maior temperatura corporal. Por sua vez, a maior temperatura, causa maior taxa de reações químicas, especialmente as catalisadas por enzimas.

Os dois principais processos bioquímicos que explicam a produção de calor nos organismos vivos são: síntese e hidrólise de ATP. A eficiência termodinâmica da síntese de ATP é aproximadamente 65%; aproximadamente 35% da energia liberada durante a oxidação dos substratos energéticos é perdida como calor. Desta maneira, a maior parte da energia é transitoriamente armazenada na molécula de ATP. Posteriormente, uma molécula de ATP é hidrolisada para sustentar o trabalho biológico, mas calor é perdido. A eficiência termodinâmica da hidrólise de ATP é ainda menor e assim, a eficiência total relacionada à síntese e hidrólise de ATP dos mamíferos é de aproximadamente 25-30% (Bianco e cols. 2005).

Na maior parte do tempo, os animais endotérmicos funcionam com maior taxa metabólica do que a TMB, porque qualquer atividade que rompe o estado de repouso promove quebra de ATP. Em mamíferos, a taxa metabólica pode ser aumentada por diversos fatores, atividade física voluntária ou involuntária,

transferência para ambiente frio, alimentação hipercalórica e pela febre. O calor derivado do aumento da taxa metabólica é conhecido como termogênese adaptativa (TA) (Silva e cols. 1995) ou termogênese facultativa (TF) (Silva e cols. 2005), que, como oposto à TO, pode flutuar rapidamente em resposta ao disparo de um sinal. Isto proporciona uma grande vantagem evolutiva que permitiu aos animais endotérmicos viver e dominar todos os ambientes do planeta (Silva e cols. 1995).

Termogênese adaptativa derivada do tremor ou não são as duas maneiras dos mamíferos combaterem o frio (Mozo e cols. 2005). Exposição ao frio induz o hipotálamo a iniciar uma resposta de tremor, o mais importante mecanismo involuntário da TA induzida pelo frio em humanos adultos e muitos mamíferos. Entretanto, o tremor inevitavelmente causa perda de calor por convecção devido às oscilações do corpo e é, portanto uma forma menos econômica de produzir calor do que o desacoplamento mitocondrial, particularmente em menores organismos com uma elevada relação superfície/massa. Deste modo, TA que não envolve tremor é a mais importante fonte de calor em humanos recém nascidos e outros pequenos mamíferos. Esta resposta é também iniciada no hipotálamo através da ativação do sistema nervoso simpático (SNS), aumentando a liberação de catecolaminas por todo o corpo, particularmente no tecido adiposo marrom (BAT), o órgão chave da TA. O BAT é intensamente inervado pelo SNS, e sua capacidade termogênica está amplamente relacionada à proteína desacopladora mitocondrial¹ (UCP1), uma proteína mitocondrial que permite a passagem de prótons e assim desfaz o gradiente de prótons através da membrana interna mitocondrial, diminuindo a abundante síntese de ATP e desse modo desacoplando a fosforilação oxidativa (Heaton e cols.

1978; Enerbäck e cols. 1997).

Os efeitos atribuídos ao T3 são principalmente resultado da sua ação sobre a regulação da expressão de genes através da interação do T3 com o receptor nuclear. Um dos mais importantes efeitos de T3 relacionado à termogênese adaptativa refere-se ao aumento da expressão da proteína desacopladora (UCP) (Ricquier e cols. 2000, apud Moreno e cols. 2002).

1.6. UCPs, HORMÔNIO TIREÓIDEO E O GASTO ENERGÉTICO

A UCP1 permite um vazamento de prótons através da membrana interna mitocondrial, não acoplado à síntese de ATP. Desta forma, o gradiente eletroquímico é diminuído e a atividade da cadeia respiratória é aumentada para manter o potencial de membrana mitocondrial. Substratos são requeridos para manter a cadeia respiratória. Gotas de triglicérides dos adipócitos marrons são utilizadas para gerar ácidos graxos e sua oxidação na matriz mitocondrial por sua vez, produz cofatores como o NADH, importante para a formação de ATP no interior da matriz mitocondrial (Silva, 2005; Mozo e cols. 2005). O uso do estoque de triglicérides explica a perda de peso dos mamíferos hibernantes e de roedores expostos ao frio e assim o papel do BAT, por intermédio da UCP1, em controlar o gasto energético durante o despertar (Mozo e cols. 2005).

A principal função da UCP1 na termogênese foi confirmada através de estudos em camundongos com deleção no gene da UCP1 que são sensíveis ao frio (Enerbäck e cols. 1997). Segundo, Golozoubova e colaboradores (2001), somente a UCP1 tem a capacidade de gerar calor através da termogênese adaptativa não

derivada do tremor. Camundongos knock-out para UCP1, quando aclimatizados primeiramente em frio menos intenso conseguem, através da termogênese derivada do tremor, se adaptar a condição de frio intenso, fato que não ocorre em animais expostos diretamente a frio intenso, porém nenhum outro mecanismo termogênico alternativo de adaptação que não seja derivado do tremor foi observado nestes animais. Sendo assim, descartando-se a hipótese de que a UCP2 e a UCP3 também pudessem desempenhar um papel na implementação da termogênese.

A UCP2 foi o primeiro homólogo da UCP1 descoberto, contendo uma seqüência de aminoácidos 59% idêntica à da UCP1 (Fleury e cols. 2002; Gimeno e cols. 1997). Poucos meses depois, outro homólogo foi descoberto, a UCP3 (Boss e cols. 1997; Vidal-puig e cols. 1997). Diferentemente da UCP1, o RNAm da UCP2 é amplamente distribuído no organismo e a proteína é detectada no baço, intestino, pulmão, tecido adiposo branco e ilhotas pancreáticas, onde o RNAm está altamente expresso (Peequer e cols. 2001). UCP3 está predominantemente expressa no músculo esquelético e no BAT (Boss e cols. 1997), sugerindo que a UCP3 possa participar da TF nos animais homeotérmicos adultos que não possuam BAT.

In vivo, camundongos transgênicos que super-expressam a UCP3 no músculo esquelético têm maior consumo de oxigênio do que animais selvagens (Li e cols. 2000). Além disso, a super-expressão da UCP3 em cultura de músculo esquelético humano diminuiu o potencial de membrana mitocondrial (Garcia-Martinez e cols. 2001). Todavia estes estudos foram realizados com altos níveis de UCP, muito acima das taxas fisiológicas. Assim, é plausível que estas observações possam não refletir a realidade em condições fisiológicas (Mozo e cols. 2005).

Camundongos com deleção no gene da UCP3 não são obesos nem apresentam desordens metabólicas, sugerindo um papel secundário no metabolismo basal. Além disso, estes ratos não são sensíveis ao frio, descartando a forte implicação deste gene na termogênese induzida pela dieta e pelo frio (Arsenijevic e cols. 2000; Vidal-Puig e cols. 2000).

Foi demonstrada a capacidade de T3 em regular os níveis de RNAm da proteína desacopladora 3 (UCP3) (Lanni e cols. 1999; Gong e cols. 1997). Então: os autores sugerem que o mecanismo molecular hipotético pelo qual T3 aumentaria o gasto energético, seria pela redução da eficiência metabólica. Foi demonstrado que a expressão do RNAm para UCP3 no músculo esquelético aumentou intensamente durante a transição do hipotireoidismo para o hipertireoidismo e que a mitocôndria do músculo esquelético dos ratos hipertireóides apresentou maior vazamento de prótons do que os hipotireóides (Lanni e cols. 1999). Posteriormente, em estudo com ratos hipotireóides, que receberam uma única dose de T3, foi descrita uma estreita correlação temporal, entre a indução da expressão da UCP3 (níveis de RNAm e proteína) e a diminuição da eficiência na respiração mitocondrial, por um lado, e o aumento na taxa metabólica basal (TMB), por outro lado (de Lange e cols. 2001). Ambos, a TMB e o aumento na densidade de proteína da UCP3 atingiram seus picos 65 h após a injeção; no mesmo período de tempo, mitocôndrias do músculo gastrocnêmio encontravam-se mais desacopladas. Esses resultados forneceram a primeira evidência in vivo que UCP3 funcionaria como um determinante molecular na regulação da TMB pelo T3 (Moreno e cols. 2002).

1.7. HORMÔNIO TIREÓIDEO E TERMOGÊNESE EM MÚSCULO ESQUELÉTICO

Tireotoxicose causa desacoplamento mitocondrial. Em hepatócitos de ratos tireotóxicos, aproximadamente 50% do aumento no consumo de oxigênio foi justificado pelo aumento na taxa de vazamento de H⁺ mitocondrial (Harper e cols. 1993). Em tireotoxicose no músculo esquelético humano, há um aumento de aproximadamente 70% no fluxo do ciclo de Krebs sem aumento da síntese de ATP (Lebon e cols. 2001). Não está claro, entretanto, se este desacoplamento mitocondrial induzido pelo T3 é mediado pelo aumento da expressão das UCPs. Ratos tireotóxicos têm níveis de RNAm para UCP3 aumentados no músculo esquelético (Gong e cols. 1997). Entretanto, camundongos com deleção no gene da UCP3 tiveram aumento normal da taxa metabólica induzido pelo T3 (Gong e cols. 2000). Além disso, o aumento dos níveis de RNAm da UCP3 mediado por T3 no músculo esquelético pode ser indireto, resultando da lipólise induzida por T3. Ácidos graxos são um potente estimulador do gene da UCP3 e o RNAm da UCP3 está aumentado no músculo esquelético de animais em jejum (Brun e cols. 1999; Aubert e cols. 1997).

É notável que o *turnover* de algumas proteínas envolvidas com reações cíclicas que gastam relativamente grande quantidade de ATP (envolvidas na manutenção da homeostase iônica e de substrato), ex. transporte de Na⁺/K⁺ através da membrana plasmática, seja amplamente induzido pelo hormônio tireóideo (Desai-Yajnik e cols. 1995, Folke e Sestoft 1977). No músculo esquelético, uma pequena mudança no gasto energético pode ter impacto substancial na termogênese total do corpo. Neste tecido, a principal via dependente do hormônio tireóideo é o ciclo do cálcio (Ca⁺) entre citosol e o retículo sarcoplasmático, que está envolvido no

mecanismo de contração e relaxamento. Este ciclo consome uma grande quantidade de ATP e é também influenciado positivamente pelo hormônio tireóideo (de Meis 2001; Reis e cols. 2002). Além disso, o T3 regula positivamente a expressão da isoforma de cadeia pesada de miosina (MHC α) (Kahaly e Dillmann, 2005) com maior atividade catalítica (Canepari e cols. 1998) e estimula a expressão do gene isoforma 1 da Ca²⁺ ATPase de retículo sarco/endoplásmico (SERCA) (Nunes e cols. 1985, Simonides e cols. 2001). Como resultado, músculo de animais tireotóxicos tem maior número de unidades da SERCA no retículo sarcoplasmático, que aumenta o gasto de ATP mesmo sob condições de repouso. Sabe-se ainda que em todo ciclo contração/relaxamento, a quantidade de cálcio mobilizada é maior e, conseqüentemente, também é o gasto de ATP. Mais recentemente, foi demonstrado que o hormônio tireóideo aumenta a atividade desacoplada da Ca²⁺ ATPase, ex. a atividade de hidrólise do ATP que não resulta em acúmulo de Ca²⁺ dentro do retículo sarcoplasmático (Arruda e cols. 2003; de Meis e cols. 2003). Conseqüentemente, mais energia química é dissipada em calor. Esta atividade da Ca²⁺ ATPase desacoplada tem sido mostrada para a isoforma 1 da SERCA e não para SERCA2. Desta forma, é notável que o hormônio tireóideo aumente especificamente a expressão do gene da SERCA1 no músculo esquelético (Simonides e cols. 1996).

Além do ciclo do Ca²⁺, um número de ciclos similares envolvendo outros íons, metabólitos intermediários, e substrato energético são influenciados pelos hormônios tireóideos, ex. frutose 6-fosfato/frutose 1,6-bifosfato, ciclo de Cori, lipólise/lipogênese (Oppenheimer e cols. 1991), glicogenólise/glicogênese, proteólise/síntese protéica, formação óssea e reabsorção (Gouveia e cols. 1997), e

outros. É importante para a homeostase energética que a estimulação desses ciclos modifique muito pouco o pool de substratos envolvidos, dependendo da intensidade e duração do estímulo. Entretanto, todos os ciclos aumentam o dispêndio de ATP, a taxa metabólica, e, portanto a produção de calor. Estes dados, em resumo, sugerem que a concentração intracelular de T3 é um importante determinante do acoplamento entre fornecimento energético e gasto (Bianco e cols. 2005).

1.8. DIODOTIRONINAS, FUNÇÃO TIREÓIDEA E TAXA METABÓLICA BASAL

Até poucos anos atrás era aceita na literatura a teoria de que T4 seria um precursor, e T3 seria o único HT ativo. No entanto, um crescente corpo de evidências sugere que outras iodotironinas (tal como a própria T4, bem como rT3 e a 3,5-T2) possam ter relevância biológica (Hulbert 2000, Lanni e cols. 2001, Goglia 2005). A tiroxina é periféricamente metabolizada por uma seqüência de desiodações, podendo dar origem a duas triiodotironinas, três diiodotironinas (T2), duas monoiodotironinas e uma tironina (Cimmino e cols. 1996) (Figura 3). A maior parte destas iodotironinas, em particular a 3,5-diiodotironina e 3,3'-diiodotironina estão presentes no fluido biológico (Chopra e cols. 1978 apud Cimmino e cols. 1996). Porém, pouco se sabe se elas são um simples produto da degradação do T4 e T3 ou se elas possuem algum efeito no nível celular. Entretanto, um crescente número de relatos tem focado a atenção no efeito metabólico das diiodotironinas, em particular 3,5-diiodotironina (3,5-T2) e 3,3'-diiodotironina (3,3'-T2) (Cimmino e cols. 1996).

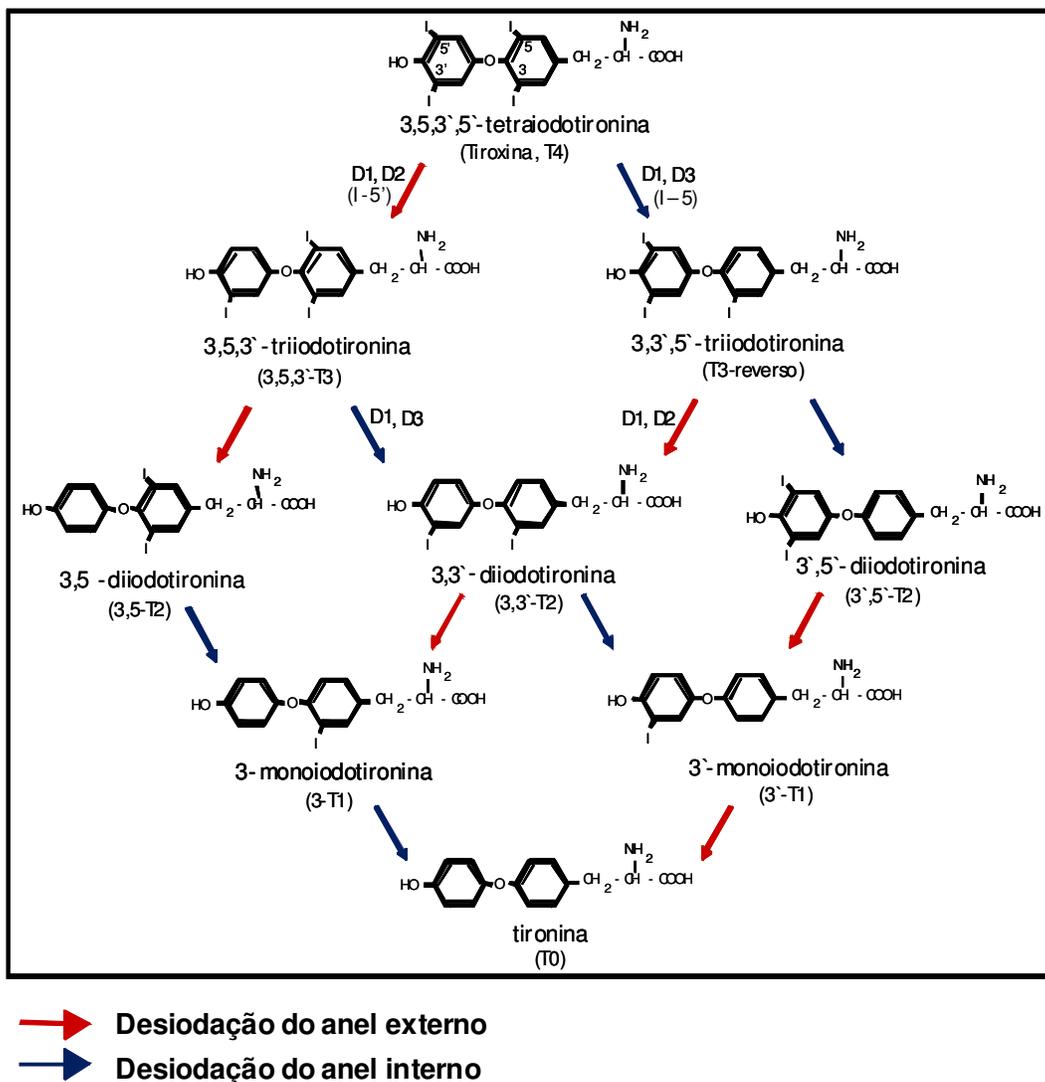


Figura 3 - Esquema representativo das reações de desiodação a partir da tiroxina, pelas desiodases do tipo 1 (D1), 2 (D2) e 3 (D3). Adaptado de Leonard & Visser, 1986 e Bianco e cols., 2002.

Em 1989, Horst e colaboradores apresentaram os primeiros resultados relacionando os efeitos das diiodotironinas em rins isolados perfundidos de ratos hipotireóides, onde pode-se observar um aumento no consumo de oxigênio promovido pela 3,5-T2, a partir de 30 minutos de sua administração enquanto que o efeito de T3 e T4 só foi significativo após 60 minutos. Na presença de propiltiouracil (PTU), inibidor da atividade da 5'-desiodase tipo 1, não ocorreu aumento do

consumo de oxigênio por ação do T3 nem de T4, no entanto, o efeito da T2 permaneceu inalterado. Os diferentes períodos de tempo para a estimulação do consumo de oxigênio por T4, T3 e T2 sugerem que T4 e T3 são desidrados à T2 que seria o responsável pela rápida estimulação do consumo de oxigênio, uma vez que na presença de PTU não houve estimulação por T4 nem por T3. Com base nestes resultados, se o rápido efeito da T2 não for somente no fígado, mas também em todos os outros órgãos (ex. coração, músculos), T2 pode desempenhar um significativo papel na termogênese (Horst e cols. 1989).

Foi demonstrado por Goglia e colaboradores em 1994, a capacidade do T2 em interagir com a citocromo c oxidase (COX) isolada de mitocôndrias de coração bovino, levando à estimulação da atividade do complexo isolado e a mudanças conformacionais do mesmo, suportando a hipótese de que o complexo COX seja um sítio de interação da T2. Posteriormente, Lanni e colaboradores (1994 e 1996) também apresentaram resultados que corroboram com estes, onde foi demonstrado que somente a 3,3'-T2 e a 3,5-T2, conseguiram produzir uma rápida estimulação na atividade da COX de animais hipotireóides, e que a mesma mostrou-se dose dependente.

Esses resultados sugerem que os isômeros T2 podem mediar os efeitos metabólicos dos hormônios tireóides periféricamente, porém não havia nenhuma evidência descrita de que T2 teria qualquer efeito calorigênico em animais e humanos.

Horst e colaboradores, em 1995, apresentaram os resultados do primeiro

trabalho utilizando 3,5-T₂, em um modelo experimental animal, com diferentes doses (2µg - 2mg/100g p.c.), por diferentes períodos de tempo (2 semanas e 3 meses), no qual o tratamento durante 2 semanas com as maiores doses de T₂ (200µg e 2mg/100g p.c.) causaram uma leve, porém significativa redução nos níveis séricos de triglicerídeos, e a maior dose reduziu significativamente tanto o peso corporal como o peso do fígado, enquanto, os níveis séricos de T₄ e TSH diminuíram significativamente de forma dose dependente. O tratamento durante 3 meses não alterou significativamente o peso corporal, entretanto na maior dose observou-se aumento significativo da ingestão, do peso do coração, baço, e rim. O tratamento também reduziu de maneira dose dependente os níveis séricos de T₄ e TSH. Além destes resultados, em experimento realizado com fragmentos de hipófise, tratados com T₂ e TRH, demonstrou-se uma supressão, dose dependente, da secreção de TSH pelo T₂. Esses dados demonstraram claramente que o T₂ pode ser um agonista específico no mecanismo de feedback negativo na secreção de TSH pela hipófise (Horst e cols; 1995).

O tratamento de animais hipotireóides com 3,5-T₂ melhorou a taxa de crescimento, normalizou o peso corporal final e também aumentou significativamente o gasto energético e a produção de CO₂, demonstrando que a T₂ pode reverter os efeitos do hipotireoidismo quimicamente induzido em ratos, entretanto foi necessário utilizar-se uma dose muito maior de T₂ (25µg/100g p.c.) do que de T₃ (1µg/100g p.c.) para se obter resultados semelhantes em ambos os tratamentos (Cimmino et al. 1996).

Resultado semelhante a este foi apresentado por Lanni e cols. (1996), porém com a utilização de uma dose muito menor da 3,3'-T2 e da 3,5-T2 (2,5, 5, ou 10µg/100g p.c.).

Em estudo comparativo, para tentar elucidar as possíveis diferentes vias de ação entre a triiodotironina e as diiodotironinas 3,3'-T2 e 3,5-T2, Moreno e colaboradores (1997), obtiveram interessantes resultados demonstrando que a 3,5-T2 teve efeito similar, porém mais rápido, sobre o metabolismo basal do que o T3. A 3,3'-T2 apresentou efeito similar à 3,5-T2, porém para tal foi necessário ser administrada uma dose três vezes maior.

O diferente curso temporal do efeito exercido pelas diiodotironinas e o T3 no metabolismo basal pode ser uma indicação de que elas desempenhem diferentes papéis em nível celular. O efeito exercido por T2 é muito rápido para envolver síntese protéica, como confirmado no próprio estudo, através do uso da actinomicina D para inibir a transcrição gênica. A administração de actinomicina D juntamente com T2 não impediu a estimulação promovida por T2 sozinho. Em contraste, quando actinomicina D e T3 foram administrados juntamente, a estimulação do metabolismo basal por T3 foi quase completamente abolido na presença de PTU (Moreno e cols. 1997).

Um estudo similar, observando o curso temporal do efeito da administração de 3,5-T2, T3 e T4, sobre a taxa metabólica basal (TMB), porém desta vez utilizando tanto animais hipotireóides quanto eutireóides, mostrou que o padrão da alteração na taxa metabólica basal após a administração de T3 difere entre ratos eutireóides e

hipotireóides: o aumento máximo na TMB ocorreu entre 50-70 h após a injeção nos ratos hipotireóides, mas após apenas 25 h nos animais eutireóides. Este fato pode significar que, nos ratos eutireóides, T3 é mais rapidamente desiodado a outra iodotironina com atividade biológica. De fato, as enzimas desiodase, estão completamente ativas sob condições normais, tendo o potencial para converter T3 em um produto capaz de mais rapidamente aumentar a taxa metabólica, possivelmente envolvendo uma via celular diferente da nuclear (Moreno e cols. 2002). No hipotireoidismo há diminuição significativa da atividade D1, o que poderia diminuir a produção efetiva de T2.

Ratos hipotireóides submetidos ao frio (4°C) sobrevivem somente durante algumas horas em média. Contudo, o tratamento com 3,5-T2 (10µg/100g p.c.) mostrou-se eficaz em melhorar a tolerância ao frio, pela estimulação da capacidade oxidativa específica de muitos órgãos metabolicamente ativos tal como BAT, fígado, coração e músculo. Animais que receberam 3,5-T2 nas doses de (2,5 e 5 µg/100g p.c.) apresentaram melhora na tolerância ao frio, entretanto, não o suficiente para mantê-los vivos em torno de 6-7 dias e 9 dias respectivamente. Estes efeitos da 3,5-T2 mimetizam em grande extensão os efeitos exercidos por T3, porém os mecanismos celulares que são a base destes efeitos são aparentemente diferentes. T3 parece exercer uma importante parte de seus efeitos nos tecidos de potencial oxidativo pela modulação do trofismo destes órgãos que são metabolicamente muito ativos (ex. BAT) (Lanni e cols. 1998). Estes efeitos podem ser uma consequência da ativação da síntese de alguns componentes do aparato de transdução de energia. No BAT, ocorre aumento de atividade da UCP induzida simultaneamente pela administração de T3 e

a ativação adrenérgica evocada pelo estímulo do frio (Silva 1988).

Por outro lado, o efeito exercido pelo 3,5-T₂ não pôde ser explicado pela ativação dos mecanismos envolvidos na regulação do trofismo do tecido. Possivelmente, o efeito da 3,5-T₂ pode ser consequência de uma interação direta da mesma com a mitocôndria (Lanni e cols. 1998), como anteriormente descrito para o complexo COX isolado (Goglia e cols. 1994).

Apesar dos diversos estudos demonstrando os efeitos das iodotironinas sobre a modulação da taxa metabólica, pouco se tem descrito em relação a sua influência no eixo de regulação da liberação dos hormônios tireóideos. A administração de 3,5-T₂ (2,5µg/100g p.c.) durante três semanas diminuiu significativamente os níveis séricos de TSH em ratos hipotireóideos, levando-os aos valores dos controles eutireóideos. Em contraste, a administração de 3,3'-T₂ não teve efeito sobre o nível de TSH dos ratos hipotireóideos, mesmo com a maior dose de 10µg/100g p.c. (Moreno e cols. 1998). Entretanto, em um dos mais recentes e completos estudos sobre os efeitos da 3,5-T₂, em ratos Wistar normais, submetidos à dieta hiperlipídica, os resultados foram contrários a estes, nos quais, os níveis séricos de TSH, T₃ e T₄ livres não expressaram diferenças em relação aos valores eutireóideos, e também não foi observada diferença em resposta a uma injeção de TRH, "teste de TRH", demonstrando que o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide não sofreu nenhuma alteração nestes animais (Lanni e cols. 2005). Nesse estudo, foi evidenciado o potencial da 3,5-T₂ em reduzir a adiposidade nos ratos submetidos à dieta hiperlipídica pelo aumento da queima de gordura, sem induzir tireotoxicose. A tireotoxicose limita o uso dos hormônios tireóideos, tanto para perda de peso como

para diminuir o colesterol sérico (Agaçi 2004; Lanni e cols. 2005). Os principais efeitos deletérios referentes à tireotoxicose são: aumento da frequência cardíaca e diminuição da massa muscular esquelética (Korenman 1970; Lanni e cols. 2005). Nos animais tratados com 3,5-T2, além da diminuição da adiposidade também ocorreu redução dos níveis séricos de ácidos graxos, triglicerídeos e colesterol, sem haver nenhum dos sinais deletérios (Lanni e cols. 2005).

O fígado parece ser o principal alvo de T2. Tanto a dieta hiperlipídica como o tratamento com T2 induziram aumento na β -oxidação, porém os mecanismos bioquímicos responsáveis por este efeito podem diferir entre os dois tratamentos. O tratamento com 3,5-T2 impediu o acúmulo de gordura no fígado, observado no grupo que recebeu somente a dieta hiperlipídica, embora os ratos que receberam T2 tenham comido aproximadamente 6% a mais do que os animais que receberam somente a dieta.

Os resultados apresentados por Lanni e cols. (2005) demonstraram que T2 aumentou significativamente a atividade da carnitina palmitoil-transferase (CPT); um adequado aumento na β -oxidação e no vazamento de prótons podem ser a base para a redução do ganho de peso e adiposidade que são induzidos pela 3,5-T2. Todavia, mais investigações são necessárias para tornar possível o entendimento do mecanismo pelo qual ocorreram às reduções dos níveis séricos de triglicerídeos, ácidos graxos e colesterol, mas as modificações observadas no metabolismo hepático (estimulação da oxidação de ácido graxo e o vazamento de prótons) já constituem uma base para a redução observada nestes parâmetros (Lanni e cols. 2005).

Sob o ponto de vista clínico, em um cenário que há aumento na oxidação de ácido graxo, redução do armazenamento de gordura, considerável redução dos níveis séricos de triglicerídeos e colesterol, do conteúdo de gordura no fígado (diminuição de esteatose), e redução do ganho de peso corporal sem a redução da ingestão de calorias/gordura, torna-se uma oportunidade para humanos. Sobrepeso e esteatose hepática são problemas crescentes em vários países (Lanni e cols. 2005). De fato, a dieta hiperlipídica causou doença não alcoólica de gordura no fígado [nonalcohol-induced fatty liver disease (NAFLD)], atualmente comum nas sociedades ricas, nas quais estima-se que até 24% da população geral tenha NAFLD (Angulo, 2002 apud Lanni e cols. 2005). Isto é devido ao aumento epidêmico na prevalência da obesidade nestas sociedades. Embora NAFLD permaneça na maior parte assintomática, até 20% dos indivíduos afetados podem progredir à cirrose, e alguns requerem transplante de fígado (Gilat e cols. 2003 apud Lanni e cols. 2005). Embora a prolongada e marcada redução na ingestão calórica alivie a NAFLD, isto é raramente alcançado na prática. Nestas circunstâncias, uma terapia farmacológica efetiva poderia ser útil. Se esses resultados forem válidos em humanos, então a administração farmacológica de T2 poderia ajudar a neutralizar os problemas acima, sem induzir um estado de tireotoxicose (Lanni e cols. 2005).

1.9. HORMONIOS TIREÓIDEOS E RESISTÊNCIA INSULÍNICA

Em modelos humanos e em animais com hipertireoidismo, várias alterações no metabolismo da glicose estão descritas. A resistência insulínica é uma das alterações encontradas comumente no hipertireoidismo. Em indivíduos

hipertireóideos, os níveis de insulina plasmática estão aumentados no jejum e podem estar associados com níveis plasmáticos normais ou aumentados de glicose. A resistência insulínica observada no hipertireoidismo é possivelmente o resultado da acelerada produção de glicose pelo fígado. Entretanto, ainda não está esclarecido se os hormônios tireóideos induzem resistência insulínica nos tecidos periféricos. Resultados contraditórios estão descritos em relação à captação de glicose pelos tecidos periféricos. Em músculos esqueléticos ou adipócitos, encontrou-se captação de glicose aumentada ou inalterada em indivíduos hipertireóideos. Em estudo utilizando ratos tratados com hormônios tireóideos, foi demonstrado o aumento do transporte de glicose estimulado por insulina em músculo esquelético (Weinstein e cols. 1994) e adipócitos (Casla e cols. 1993; Shimizu e Shimazu, 2002). Entretanto, dados contraditórios também foram descritos (Goto e cols. 1997).

A principal função metabólica da insulina é aumentar os transportadores de glicose no músculo e no tecido adiposo. GLUT4 (transportador de glicose regulado por insulina) é o transportador de glicose predominantemente expresso nestes tecidos responsivos à insulina. A translocação do GLUT4 intracelular para a membrana plasmática é o mais importante mecanismo pelo qual a insulina estimula o transporte de glicose nas células musculares e adiposas. O aumento da proteína e na expressão do RNAm de GLUT4 têm sido descritos em adipócitos e células musculares de ratos tratados com T3 ou T4 (Weinstein e cols. 1994; Shimizu e Shimazu, 2002).

Goto e cols. (1997) demonstraram que T3 inibe o transporte de glicose estimulado por insulina em adipócitos. Apesar do efeito inibitório no transporte de

glicose, T3 não alterou a translocação do GLUT4 intracelular para membrana plasmática.

O fato de T3 inibir o transporte de glicose sem afetar a translocação do GLUT4 nos adipócitos estimulados pela insulina sugere que T3 também iniba o transporte de glicose pela diminuição da atividade intrínseca. Este efeito inibitório de T3 na atividade intrínseca GLUT4 é também consistente com o fato de que T3 diminuiu significativamente o nível máximo da resposta do transporte de glicose nas células estimuladas com insulina sem alterar significativamente a quantidade da proteína GLUT4 (Goto e cols. 1997). Entretanto, Dimitriadis e cols. (1997), encontraram um aumento no transporte de glicose, em músculo de ratos hipertireóides.

Embora o excesso de hormônio tireóideo seja consistentemente descrito por induzir resistência insulínica (Dimitriadis e cols. 1985; Dimitriadis e Raptis 2001), existem poucos estudos que investigaram a ação da insulina na privação dos hormônios tireóides em humanos, sendo os resultados conflitantes (Dimitriadis e cols. 2006. b).

A regulação da glicemia pela insulina depende da supressão da produção endógena de glicose e da estimulação da captação periférica da glicose. A produção hepática de glicose está diminuída ou inalterada no hipotireoidismo, porém há pouca informação sobre o efeito da insulina em tecidos periféricos em humanos (Dimitriadis e cols. 2006. b). Dimitriadis e cols. (1997) encontraram diminuição na responsividade da captação de glicose pela insulina em músculo esquelético de ratos

hypotireóideos, todavia aumentada em adipócitos (Correze e cols.1979)

Dimitriadis e cols. (2006. b), apesar de não encontrarem diferença entre a glicemia de jejum entre pacientes hipotireóideas e normais, os autores observaram a existência de resistência insulínica pós-prandial, pois a depuração da glicose, após refeição padrão, foi significativamente menor nas pacientes hipotireóideas.

Outro trabalho, também realizado por Dimitriadis e cols. (2006. a), porém desta vez com pacientes hipertireóideos, evidenciou resistência insulínica pós-prandial e demonstrou resistência à ação da insulina no tecido adiposo destes indivíduos.

Assim, a influência dos hormônios tireóideos sobre a captação celular de glicose, bem como os mecanismos envolvidos nesta regulação, ainda permanecem pouco esclarecidos e muito controversos.

1.10. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

O 3,5-T2 impediu o ganho de peso e o desenvolvimento de esteatose hepática em ratos submetidos a dieta hiperlipídica, além de aumentar o consumo de oxigênio quando administrado cronicamente a ratos. Uma vez que ratos machos da linhagem Wistar desenvolvem sobrepeso e resistência insulínica ao longo do processo de envelhecimento, por mecanismos ainda pouco esclarecidos, decidimos verificar se a administração crônica de 3,5-T2 poderia impedir o desenvolvimento do sobrepeso e as modificações metabólicas que ocorrem naturalmente nesta linhagem. Seria

interessante avaliarmos a possibilidade dessa nova abordagem para impedir o ganho de massa corporal sem que haja os efeitos deletérios produzidos pelo tratamento com T4 ou T3, como a hipertrofia cardíaca.

A restrição calórica é um método eficiente para impedir o desenvolvimento da síndrome metabólica nesses animais. Assim, há evidente desequilíbrio energético crônico que está envolvido na gênese do sobrepeso, ou seja, há maior ingestão alimentar com relação ao gasto energético diário dos animais. Decidimos assim comparar os efeitos da restrição calórica crônica com aqueles promovidos pela administração de 3,5-T2.

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GERAL

No presente estudo objetivamos avaliar os efeitos da 3,5 diiodotironina, em diferentes doses, e da restrição alimentar sobre a função tireóidea, o metabolismo energético e a massa corporal de ratos Wistar durante a gênese do sobrepeso (dos 3 aos 6 meses de idade), visando a busca de uma possível nova abordagem para impedir o desenvolvimento do sobrepeso

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Nos animais submetidos ao tratamento com 3,5-T2 ou à restrição alimentar durante 3 meses, avaliamos:

- 1 Ganho de massa corporal;
- 2 Composição corporal (gorduras: retroperitoneal, epididimal);
- 3 T4, T3 e TSH séricos;
- 4 Consumo de oxigênio *in vivo*;
- 5 Teste de tolerância à glicose;
- 6 Peso relativo do coração.

3. METODOLOGIA

3.1. ANIMAIS

Foram utilizados como modelo animal, ratos machos da linhagem Wistar, com 3 meses de idade, mantidos em gaiolas individuais, em biotério com condições controladas de luminosidade (ciclo claro-escuro/12hs), temperatura (23°C) e ciclo de exaustão de ar, em gaiolas individuais, subdivididos em 5 grupos com média de pesos iguais no início do tratamento. Os animais receberam água e ração *ad libitum*, com exceção do grupo em restrição calórica. Todos os protocolos experimentais foram aprovados e realizados de acordo com os padrões de cuidados com os animais, definidos pelo comitê institucional (www.biof.ufrj.br/cauaup.doc).

3.2. TRATAMENTO COM T2

Foi administrado, 3,5-T2 (SIGMA), por via subcutânea (s.c.) no mesmo horário da oferta de ração (12:00h), diariamente durante 90 dias. As doses administradas de T2 foram de 25µg, 50µg e 75µg/100g de peso corporal (p.c.). A dose de 25µg/100 g p.c. corresponde à dose de reposição hormonal capaz de normalizar o gasto energético em animais hipotireóideos (Cimmino e cols. 1996). O T2 foi dissolvido em pequena quantidade de NaOH (0,04N), aproximadamente 15% do volume final, e avolumado com solução salina 0,9%.

Os animais que não foram tratados com T2 receberam administração de solução salina, em volume equivalente ao da média dos animais tratados.

3.3. RESTRIÇÃO ALIMENTAR

Com o intuito de estabelecer a ingestão diária de cada animal, a ração ingerida foi controlada durante 2 semanas. Para tanto, os animais foram alocados em gaiolas individualizadas. Cada animal teve acesso a 100 gramas de ração por 24 horas. No mesmo horário em que a ração foi oferecida, pesou-se o que restou em cada gaiola, determinando-se o Resto-Ingestão (RI). Ao final de 2 semanas foi realizado o cálculo da ingestão diária média.

De acordo com dados da literatura (Wetter e cols. 1999; Gazdag e cols. 1999; Davidson e cols. 2002; Araújo e cols. 2008), foi estabelecido o valor de 60% da ingestão média para ser oferecido aos animais em restrição alimentar.

Diariamente, às 12:00h, foi colocada a quantidade de ração previamente determinada para cada animal em restrição. Os animais controle receberam ração *ad libitum*.

Este procedimento foi realizado até o dia do sacrifício.

<u>GRUPOS EXPERIMENTAIS</u>
• Controle - (C)
• Tratamento T2 25µg/100g de p.c. - (T2 25µg)
• Tratamento T2 50µg/100g de p.c. - (T2 50µg)
• Tratamento T2 75µg/100g de p.c. - (T2 75µg)
• Restrição de 40% - (R)

Figura 4 - Quadro representativo dos grupos experimentais.

3.4. CONTROLE DO PESO CORPORAL E INGESTÃO ALIMENTAR

Durante o experimento, o peso corporal dos animais foi aferido duas vezes por semana, utilizando-se balança digital (Precision) com variação de duas casas decimais, e o RI foi determinado a cada dois dias, no mesmo horário da oferta de ração.

3.5. CURVA GLICÊMICA

Para realização da curva glicêmica, os animais permaneceram em jejum durante um período de 12 horas, e foi aferida a glicemia colhendo-se sangue da cauda (aparelho accu chek advantage II) no tempo zero. Após esta medição os animais receberam solução de dextrose $1,83 \times 10^{-3}$ mol/100g de peso corporal, por gavagem orogástrica, e as subseqüentes medições foram realizadas 30, 60, 120 e 180 minutos após à gavagem.

3.6. CONSUMO DE OXIGÊNIO

O consumo de oxigênio foi determinado utilizando-se um circuito aberto de calorimetria indireta. Foram feitas medidas antes do início e 30, 60 e 90 dias após o início do tratamento. Os animais (controle, restrição e T2 75 µg) foram colocados individualmente em uma gaiola (25 X 25 X 15 cm), e o fluxo de ar foi mantido constante em 500 ml/min por um controlador de fluxo (Sable System International, Las Vegas, NV, USA). A concentração de oxigênio foi medida utilizando um analisador de O₂ (Sable System International). A concentração de oxigênio foi

registrada em intervalos de 15 min, durante 24 h. O resultado foi calculado a partir da área sob a curva de concentrações de O_2 , e expressa em LO_2/Kg por h. Para se evitar a variação causada pela adaptação à gaiola, as primeiras 6 h foram excluídas das análises.

3.7. SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Os animais foram sacrificados por decapitação, após 90 dias de tratamento (6 meses de idade).

O sangue foi coletado para avaliação das concentrações séricas T3, T4 e TSH, determinadas por radioimunoensaios (RIE) específicos, conforme descritos asseguir.

Para a obtenção do soro foi realizada a centrifugação ($1000 \times g$ 20 minutos $4^\circ C$) do sangue, em tubos individualizados com a retirada do sobrenadante (soro). As amostras de soro foram aliqüotadas em 2 tubos e armazenadas à $-70^\circ C$ até o momento das análises.

O coração e as gorduras retroperitoneal e epididimal foram retirados, pesados e relacionados ao peso corporal do animal no dia do sacrifício.

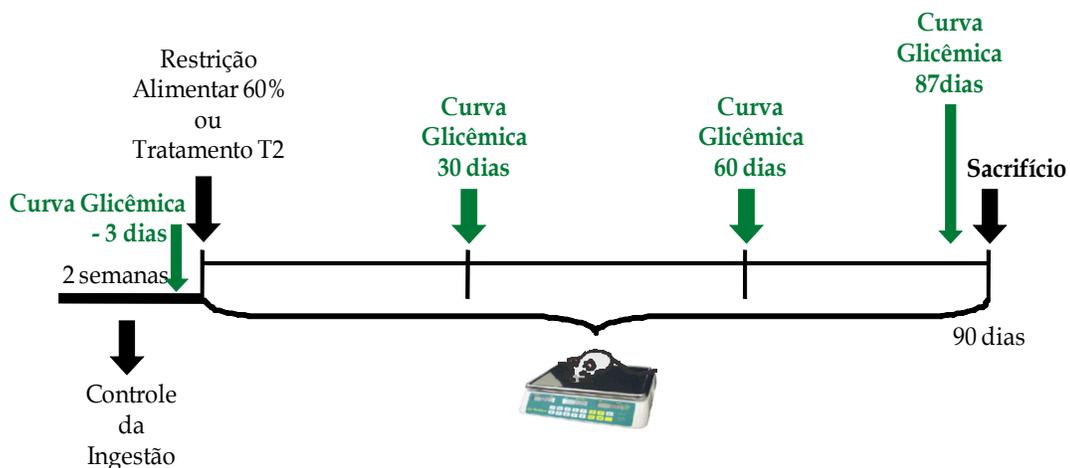


Figura 5 - Esquema representativo da metodologia experimental.

3.8. ANÁLISES

3.8.1. RADIOIMUNOENSAIO (RIE)

3.8.1.1. T3 e T4

As concentrações séricas de T3 e T4 foram determinadas através de Kit comercial para RIE de T3 (DLS - 3100 Active[®], TX, EUA) e T4 (DLS - 3200, Active[®], TX EUA) totais, contendo anticorpos específicos aderidos à parede dos tubos de polipropileno; utilizando-se as curvas padrão fornecidas pelo próprio Kit. Todo o procedimento foi realizado seguindo-se as recomendações do fornecedor.

3.8.1.2. TSH

As dosagens de TSH sérico foram feitas por radioimunoensaio específico, empregando um kit fornecido pela National Institute of Diabetes and Kidney Diseases (NIDDK-Bethesda, EUA), e expressos em termos da preparação de referência 3 (RP-3). Esse Kit é composto por TSH murino purificado para a preparação das amostras utilizadas na curva padrão (0,625 a 25 ng/ml), TSH murino para ser iodado e anticorpo de coelho anti-TSH murino (1º anticorpo).

A iodação da molécula de TSH com ^{125}I foi realizada em nosso laboratório, pelo método da cloramina T, sendo a molécula marcada purificada em uma coluna de gel de poliacrilamida (Biogel-P60 fino da Bio-rad, EUA), conforme previamente descrito (Ortiga, 1992). O RIE foi realizado pelo método do segundo anticorpo (anti-rabbit IgG, Sigma), com adição de 6% de polietilenoglicol. O TSH sérico foi expresso em ng/ml.

Em todos os radioimunoensaios as amostras foram dosadas em duplicata e a detecção da radioatividade foi realizada em um cintilador de fase sódica Wizard (1470 Wallac Wizard™ automatic gamma counter).

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Cada experimento foi repetido 3 vezes, sendo todos os dados expressos como média \pm erro padrão da média. Em cada grupo experimental havia, no mínimo, 4 animais correspondentes a cada tratamento realizado. A análise estatística empregada na comparação dos resultados apresentados foi realizada com a utilização do programa de análises estatísticas Graphpad Prism (versão 4, Graphpad Software, Inc., San Diego, USA).

O peso corporal, ingestão alimentar, a gordura retroperitoneal e epididimal, peso do coração, a área sob a curva do teste de tolerância a glicose e as concentrações séricas de T3 e T4, foram analisados por análise de variância univariada paramétrica, seguida de teste de comparação múltipla de Newman-Keuls. Os dados de TSH sérico foram avaliados por análise de variância univariada não paramétrica seguida do teste de comparação múltipla de Dunn. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. MASSA CORPORAL, DAS GORDURAS EPIDIDIMAL, RETROPERITONEAL E DO CORAÇÃO

Todos os grupos apresentavam pesos semelhantes ao início do experimento, figura (6-A) (C- 291.5 ± 28.8 g, T2 25 μ g- 288.9 ± 20.5 g, T2 50 μ g- 288.9 ± 18.3 g, T2 75 μ g- 290.3 ± 25.2 g e R- 292.6 ± 23.5 g), sem diferença significativa entre os mesmos. Como podemos observar na figura 6, o tratamento com 3,5-diiodotironina causou uma diminuição significativa no ganho de massa corporal (m.c.) dos animais durante o envelhecimento, figura (6-B) (C- 401.7 ± 38.1 g, T2 25 μ g- 365.9 ± 28.4 g, T2 50 μ g- 366.5 ± 24.4 g, T2 75 μ g- 367.5 ± 30.6 g e R- 254 ± 27.9 g) e figura (6-C) (C- 107.8 ± 30.5 g, T2 25 μ g- 71.8 ± 28.9 g, T2 50 μ g- 77.6 ± 16.4 g, T2 75 μ g- 77.2 ± 23.9 g e R- -29.3 ± 24.9 g), nas três diferentes doses utilizadas, contudo, somente a restrição alimentar foi eficaz em impedir o ganho de peso, de maneira que, o peso dos animais ao final do experimento não apresentou diferença em relação ao peso inicial.

	Massa corporal (g) 3 meses	Massa corporal (g) 6 meses	Varição (Δ) Massa corporal (g)
Controle	291.5 ± 28.8	401.7 ± 38.1 a	107.8 ± 30.5 a
T2 25 μ g	288.9 ± 20.5	365.9 ± 28.4 b	71.8 ± 28.9 b
T2 50 μ g	288.9 ± 18.3	366.5 ± 24.4 b	77.6 ± 16.4 b
T2 75 μ g	290.3 ± 25.2	367.5 ± 30.6 b	77.2 ± 23.9 b
Restrição	292.6 ± 23.5	254 ± 27.9 c	-29.3 ± 24.9 c

Tabela 2 - corporal dos animais no início do tratamento (3 meses de idade), ao final do tratamento (6 meses de idade), e variação da massa corporal no final do tratamento em relação a massa inicial.

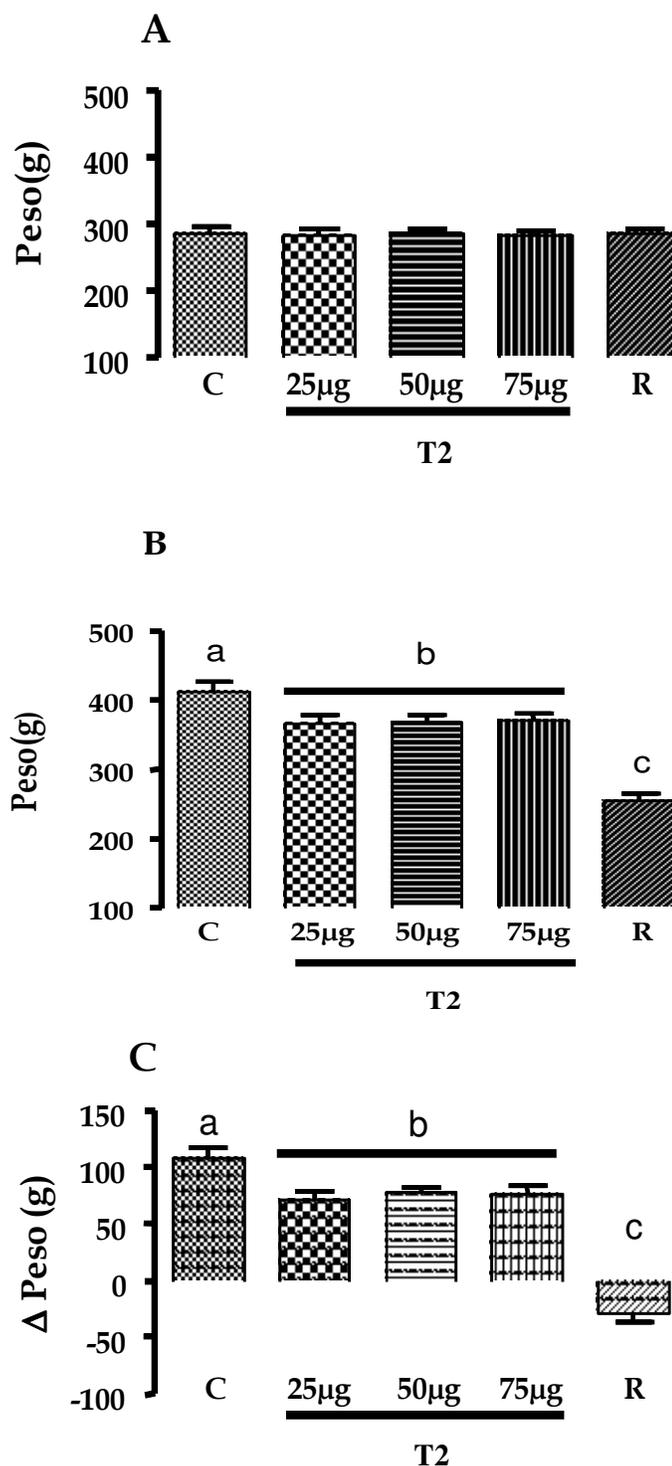


Figura 6 - (A) Massa corporal dos animais no início do tratamento (3 meses de idade) e (B) ao final do tratamento (6 meses de idade), e (C) variação da massa corporal no final do tratamento em relação a massa inicial. Controle C (n= 15); T2 25µg (n= 14); T2 50µg (n=14); T2 75µg (n=19) e restrição R, (n= 13). Letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes (b - $p < 0.05$ vs a, c - $p < 0.001$ vs a). Os valores são média + EPM; n = número de ratos.

Entretanto, os compartimentos de gorduras, retroperitoneal e epididimal, não diferiram significativamente entre grupo controle e tratados com 3,5-T2 (C- 1.92 ± 0.84 g/100g p.c., T2 25 μ g- 1.52 ± 0.40 g/100g p.c., T2 50 μ g- 1.59 ± 0.43 g/100g p.c., T2 75 μ g- 1.60 ± 0.45 g/100g p.c. e R- 0.76 ± 0.74 g/100g p.c.) e (C- 1.89 ± 0.58 g/100g p.c., T2 25 μ g- 1.68 ± 0.49 g/100g p.c., T2 50 μ g- 1.64 ± 0.46 g/100g p.c., T2 75 μ g- 1.72 ± 0.57 g/100g p.c. e R- 1.08 ± 0.47 g/100g p.c.), apesar de haver diminuição da quantidade de gordura (retroperitoneal e epididimal). Novamente, a restrição mostrou-se uma abordagem mais eficiente, proporcionando redução significativa nos compartimentos de gordura (figura 7).

	Gordura Retroperitoneal (g/100g p.c.)	Gordura Epididimal (g/100g p.c.)
Controle	1.92 ± 0.84 a	1.89 ± 0.58 a
T2 25 μ g	1.52 ± 0.40 a	1.68 ± 0.49 a
T2 50 μ g	1.59 ± 0.43 a	1.64 ± 0.46 a
T2 75 μ g	1.60 ± 0.45 a	1.72 ± 0.57 a
Restrição	0.76 ± 0.74 b	1.08 ± 0.47 b

Tabela 3 - Gorduras epididimal e retroperitoneal (g/100g p.c.) ao final do tratamento

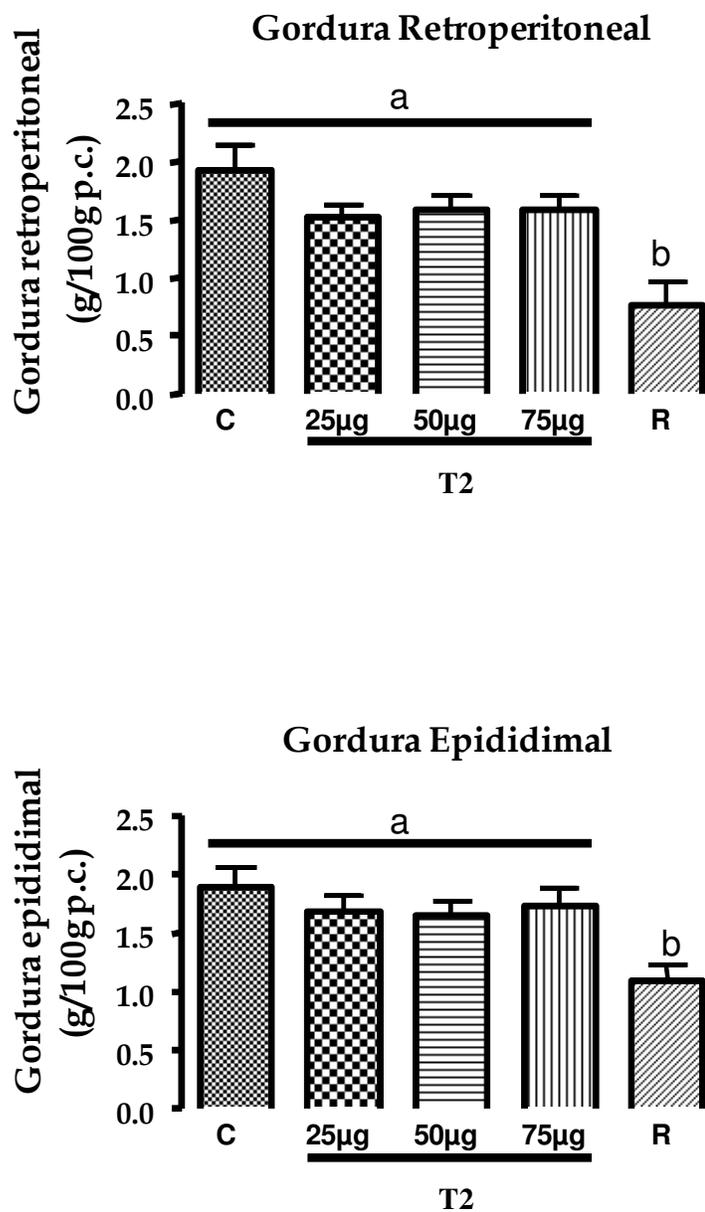


Figura 7 - Gorduras epididimal e retroperitoneal (g/100g p.c.) ao final do tratamento. Controle C, (n= 15); T2 25µg (n= 14); T2 50µg (n=14); T2 75µg (n=16) e restrição R, (n= 13). Letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes (b - $p < 0,001$). Os valores são média \pm EPM; n = número de ratos.

O tratamento com a maior dose de T2 (75 μ g), durante 3 meses, aumentou significativamente a relação peso do coração/massa corporal em relação aos animais controle (C-0.290 \pm 0.033 g/100g p.c., T2 25 μ g-0.296 \pm 0.034 g/100g p.c., T2 50 μ g-0.317 \pm 0.037 g/100g p.c., T2 75 μ g-0.326 \pm 0.046 g/100g p.c. e R-0.308 \pm 0.031 g/100g p.c.) (figura 8), apesar das outras doses também apresentarem uma clara tendência no aumento desta relação, este não foi significativo. A restrição alimentar não promoveu alteração significativa na razão peso do coração/massa corporal.

	Peso relativo do coração (g/100g p.c.)
Controle	0.290 \pm 0.033 a
T2 25 μ g	0.296 \pm 0.034 a
T2 50 μ g	0.317 \pm 0.037 a
T2 75 μ g	0.326 \pm 0.046 b
Restrição	0.308 \pm 0.031 a

Tabela 4 - Peso do coração

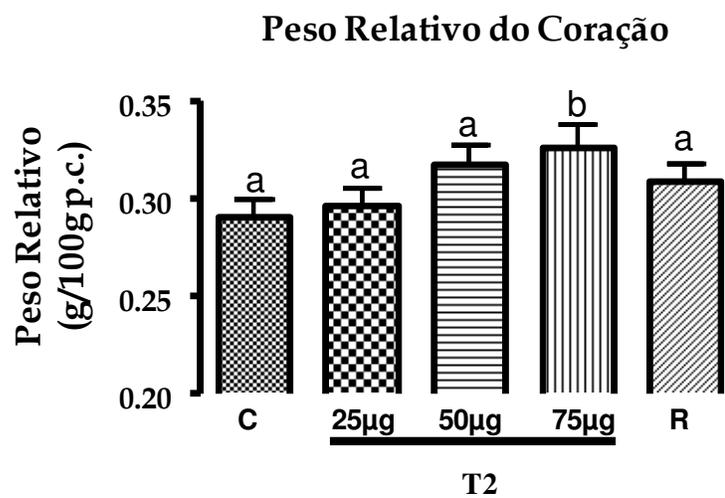


Figura 8 - Peso do coração. Controle C (n= 15); T2 25µg (n= 14); T2 50µg (n=14); T2 75µg (n=16) e restrição R (n= 13). Letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes (b - $p < 0.05$). Os valores são média \pm EPM; n = número de ratos.

5.2. CONCENTRAÇÕES SÉRICAS HORMONAIIS

O tratamento com 3,5-T2 promoveu a redução significativa na concentração sérica de T3 (C- 54.18 ± 8.40 ng/dL, T2 25 μ g- 39.35 ± 8.12 ng/dL, T2 50 μ g- 31.31 ± 9.55 ng/dL, T2 75 μ g- 26.11 ± 13.14 ng/dL e R- 59.73 ± 11.01 ng/dL) (figura 9), e T4 (C- 3.868 ± 0.757 μ g/dl, T2 25 μ g- 2.272 ± 0.386 μ g/dl, T2 50 μ g- 1.218 ± 0.306 μ g/dl, T2 75 μ g- 0.802 ± 0.211 μ g/dl e R- 3.779 ± 0.627 μ g/dl) (figura 10). A redução nos níveis de T4 e T3 apresentou uma relação direta com a dose de T2 administrada.

	T3 sérico total (ng/dL)
Controle	54.18 ± 8.40 a
T2 25 μ g	39.35 ± 8.12 b
T2 50 μ g	31.31 ± 9.55 b,c
T2 75 μ g	26.11 ± 13.14 c
Restrição	59.73 ± 11.01 a

Tabela 5 - Concentrações séricas de T3 (ng/dL).

	T4 sérico total (μ g/dL)
Controle	3.868 ± 0.757 a
T2 25 μ g	2.272 ± 0.386 b
T2 50 μ g	1.218 ± 0.306 c
T2 75 μ g	0.802 ± 0.211 d
Restrição	3.779 ± 0.627 a

Tabela 6 - Concentrações séricas de T4 (μ g/dl).

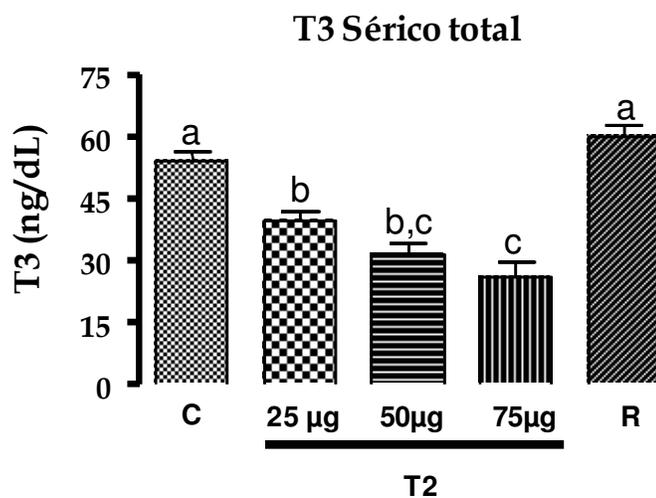


Figura 9 - Concentrações séricas de T3 (ng/dL), Controle (C, (n= 14); T2 25µg (n= 11); T2 50µg (n=13); T2 75µg (n=15) e restrição (R, (n= 13). Letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes. Os valores são média \pm EPM; $p < 0.01$ (a) em relação (b), $p < 0.001$ (a) em relação (b, c) e $p < 0,05$ entre (b) e (c); n = número de ratos.

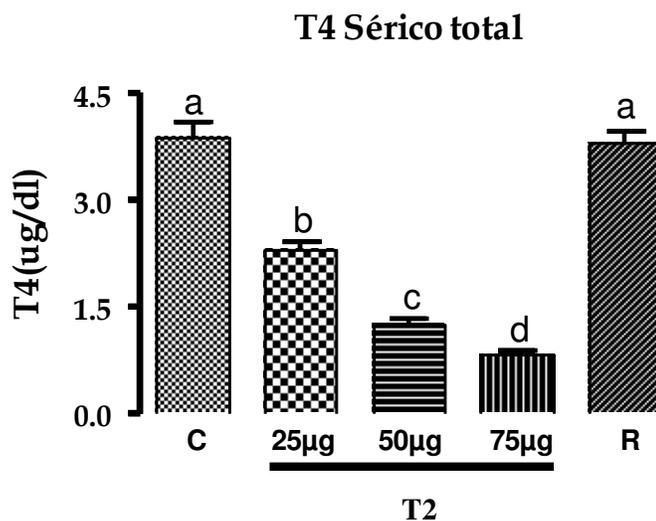


Figura 10 - Concentrações séricas de T4 (µg/dl), Controle (C, (n= 14); T2 25µg (n= 11); T2 50µg (n=13); T2 75µg (n=15) e restrição (R, (n= 13). Letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes. Os valores são média \pm EPM; $p < 0.001$ (a) em relação (b, c, d), $p < 0.001$ (b) em relação (c, d) e $p < 0,05$ entre (c) e (d); n = número de ratos.

Os níveis séricos de TSH não alteraram significativamente pelo tratamento com T2 e nem pela restrição alimentar (C- 0.951 ± 0.211 ng/mL, T2 25 μ g- 0.990 ± 0.291 ng/mL, T2 50 μ g- 0.729 ± 0.200 ng/mL, T2 75 μ g- 0.795 ± 0.249 ng/mL e R- 0.788 ± 0.272 ng/mL). Apesar de não haver uma redução significativa nas concentrações de TSH, alguns animais dos grupos 3,5-T2 (50 μ g e 75 μ g) e restrição apresentaram valores abaixo do limite de detecção do radioimunoensaio utilizado. Os valores de TSH nos grupos tratados com 3,5-T2 encontram-se inapropriadamente normais, uma vez que os valores de T3 e T4 encontram-se significativamente reduzidos.

	TSH sérico (ng/mL)
Controle	0.951 ± 0.211
T2 25 μ g	0.990 ± 0.291
T2 50 μ g	0.729 ± 0.200
T2 75 μ g	0.795 ± 0.249
Restrição	0.788 ± 0.272

Tabela 7 - Concentrações séricas de TSH (ng/mL).

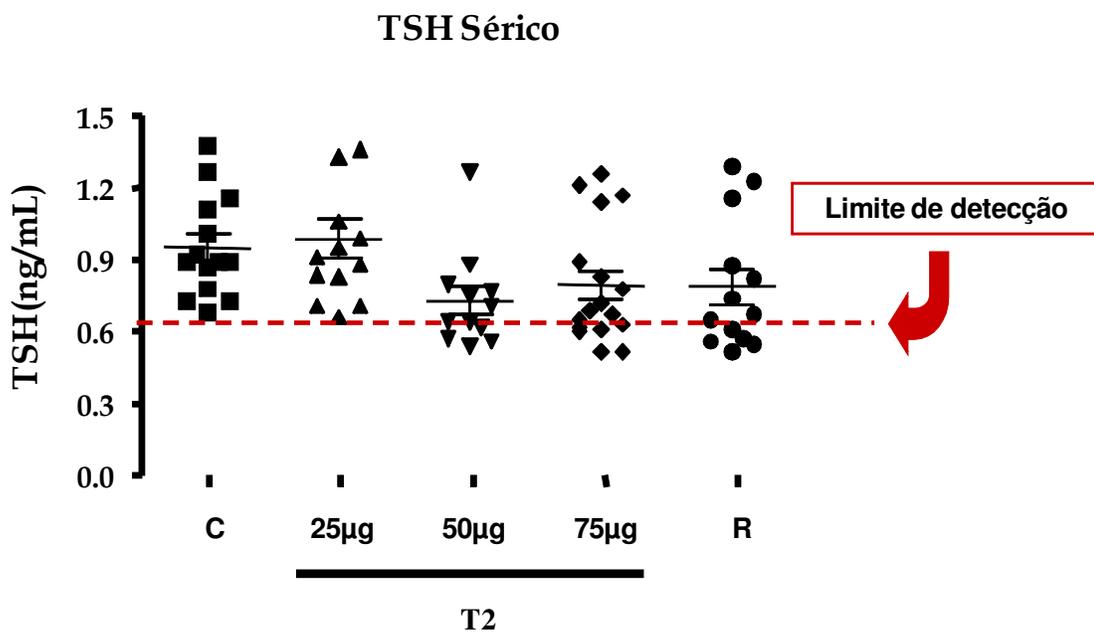


Figura 11 - Concentrações séricas de TSH (ng/mL). As barras em cada grupo representam a média \pm EPM. Linha tracejada indica o valor mínimo de detecção do teste.

5.3. CONSUMO DE OXIGÊNIO

A restrição alimentar promoveu redução no consumo de oxigênio por 24hs ao final do tratamento, determinado pela área sob a curva do consumo de oxigênio, ao passo que o tratamento com T2 não alterou o consumo de oxigênio em relação ao controle (C- 1117 ± 65.38 LO₂/Kg/16h, T2 $75\mu\text{g}$ - 1051 ± 200.9 LO₂/Kg/16h e R- 723.2 ± 223.3 LO₂/Kg/16h). Entretanto, levando-se em consideração que os valores de T4 e T3 estão significativamente diminuídos nos grupos tratados com T2, esperávamos encontrar o consumo de oxigênio também reduzido, no entanto o mesmo manteve-se semelhante ao grupo controle, sugerindo uma ação direta do 3,5-T2 sobre o mesmo.

	Consumo de oxigênio (LO ₂ /Kg/16h)
Controle	1117 ± 65.38 a
T2 $75\mu\text{g}$	1051 ± 200.9 a
Restrição	723.2 ± 223.3 b

Tabela 8 - Consumo de oxigênio, durante 16 h.

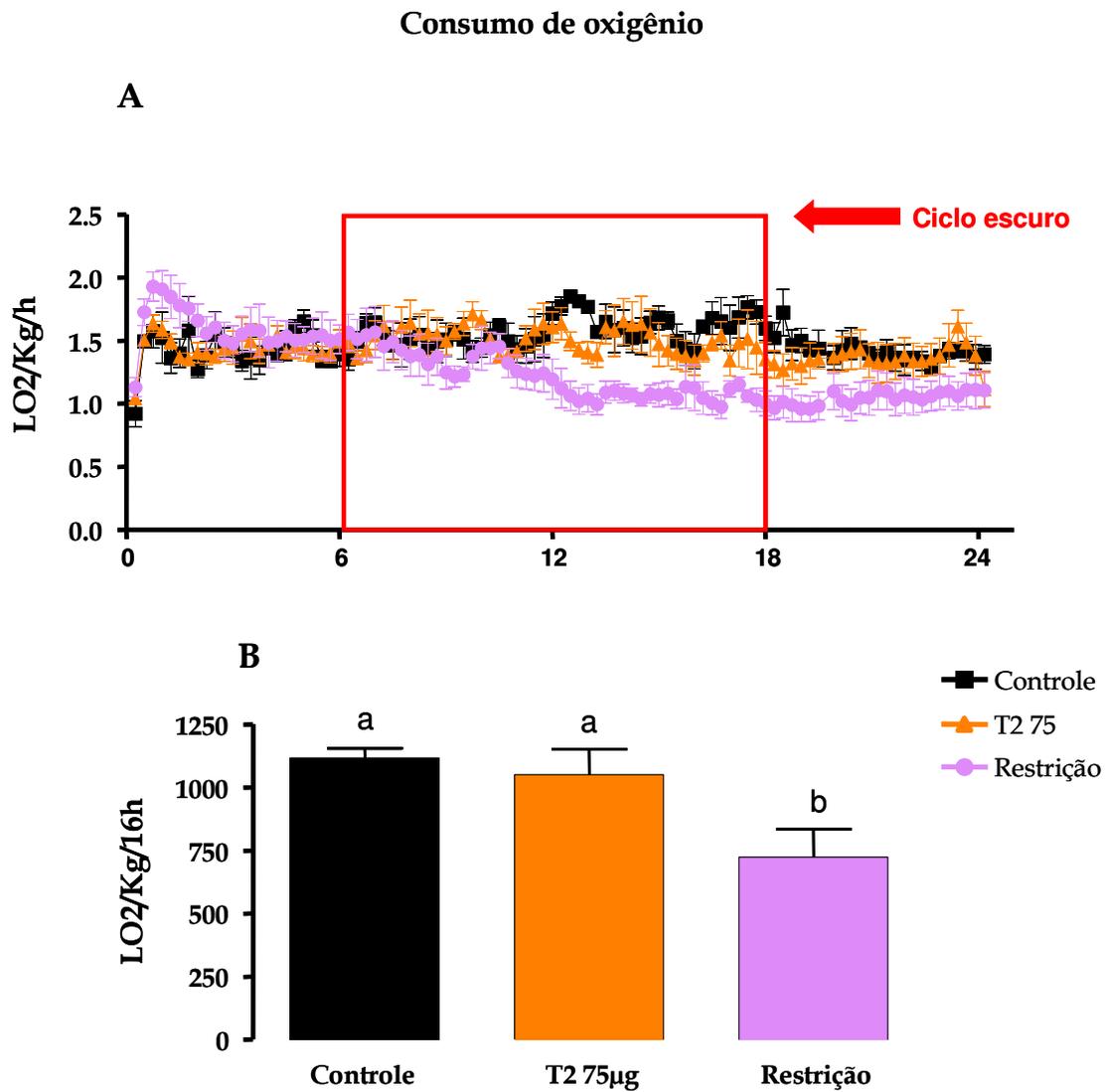


Figura 12 - (A) Consumo de oxigênio a cada 15 minutos, durante 24 h Controle C (n= 3); T2 75 μ g (n= 4) e restrição R (n= 4). Retângulo vermelho representa o ciclo escuro. (B) Área sob a curva. Os valores são média \pm EPM; b - p<0.05 vs a; n = número de ratos.

5.4. TOLERÂNCIA À GLICOSE

Os valores da área sob a curva, dos animais controle, foram significativamente maiores ao final do experimento (6 meses de idade), em relação aos valores iniciais (3 meses de idade), o tratamento com 3,5 T2, nas três doses, e a restrição alimentar impediram a gênese da resistência insulínica nestes grupos.

Curva glicêmica (área sob a curva)

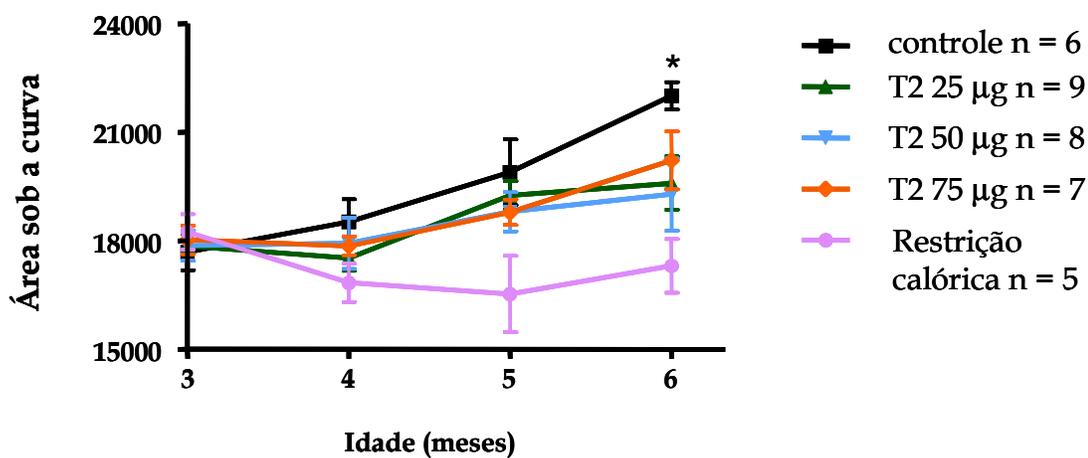


Figura 13 - Teste de tolerância à glicose, obtidos ao longo do tratamento, nos tempos 3, 4, 5 e 6 meses. Controle 6 meses * $p < 0,01$ em relação ao controle de 3 meses e aos demais grupos aos 6 meses.

6. DISCUSSÃO

A taxa metabólica basal tem como seu principal regulador os hormônios tireóideos (Van Gaal e cols. 1992), sendo esta considerada uma de suas mais importantes ações em adultos, vertebrados homeotérmicos (Tata e cols. 1962).

Este efeito foi durante longo tempo foco de pesquisas do uso potencial dos hormônios tireóideos como uma droga para estimular perda de peso. Entretanto, a concomitante indução de um estado de tireotoxicose limita amplamente o uso do T3 e do T4 como um agente para perda de massa corporal (Lanni e cols. 2005). Entretanto, em recente estudo utilizando um metabólito dos hormônios tireóideos, a 3,5 T2, demonstrou-se a eficácia do mesmo em impedir o ganho de peso sem gerar o estado de tireotoxicose, sugerindo assim uma possível utilização terapêutica do 3,5 T2 em humanos, no combate ao sobrepeso e a obesidade. Todavia, não podem ser excluídos prováveis efeitos deletérios decorrentes do seu uso crônico.

No presente estudo nosso interesse foi verificar se o tratamento com 3,5 T2 seria eficaz em impedir o ganho de massa corporal, como ocorre com a restrição alimentar, e também a influência do tratamento sobre a função tireóidea e o metabolismo energético.

Nossos resultados mostram que o tratamento com 3,5 T2 reduziu significativamente o ganho de massa corporal ao final do tratamento, em todas as doses administradas. Contrariamente aos nossos resultados, Horst e cols. (1995) não encontraram alterações no ganho de massa corporal em ratos Wistar tratados durante 3 meses com 3,5 T2, mesmo na dose de 250 μ g/100 g p.c..

Lanni e cols. (2005), através da concomitante administração de uma dieta

hiperlipídica e de 3,5 T2, observaram que o tratamento com 3,5 T2 bloqueou o ganho de peso gerado pela dieta hiperlipídica, de maneira que o ganho de peso dos animais tratados conjuntamente com T2 foi igual ao do grupo controle.

Desta forma, frente a uma condição de indução do sobrepeso (Lanni e cols. 2005), o tratamento com 3,5 T2 demonstrou-se eficaz em impedir o maior ganho de massa. Entretanto, o nosso modelo experimental se utiliza do surgimento natural do sobrepeso, que ocorre com a linhagem de ratos Wistar durante o início do envelhecimento (Seraphim e cols. 2001), e talvez por este motivo não tenhamos observado um total bloqueio do ganho de peso e sim apenas uma redução no ganho de massa corporal ao longo do tempo.

A restrição alimentar promoveu redução da massa corporal ao final do tratamento em relação ao valor inicial, demonstrando sua eficiência não só em impedir o ganho de peso como também a capacidade de chegar ao final do tratamento com valores inferiores ao inicial. Este resultado pode sinalizar que o valor de restrição alimentar adotado por nós nesse trabalho possa ser muito severo, como descrito por Heilbronn e Ravussin (2003), e de difícil implementação em humanos. Apesar de, tradicionalmente, modelos experimentais de restrição alimentar em mamíferos envolverem uma redução na ingestão calórica em torno de 40% da dieta *ad libitum* do animal (Araujo e cols. 2008; Heilbronn e Ravussin 2003; Luz e cols. 1995), esta é uma realidade improvável para a maioria dos humanos conseguirem manter por longo tempo, com o intuito de alcançar os benefícios que a restrição calórica oferece à saúde e ao prolongamento da vida (Dirks e Leeuwenburgh, 2006).

Desta forma, sugere-se a utilização de uma restrição alimentar moderada (25% da dieta normal) (Heilbronn e Ravussin, 2003), como utilizado nos estudos mais atuais realizados em humanos por Heilbronn e cols. (2006); Redman e cols. (2007) e Larson-Meyer e cols. (2006).

Apesar dos valores das gorduras retroperitoneal e epididimal terem sido menores nos grupos tratados com 3,5 T2, esta diferença não foi significativa, de maneira que apenas a restrição alimentar reduziu significativamente o conteúdo de gordura retroperitoneal e epididimal. A restrição alimentar é uma abordagem eficiente para a redução dos compartimentos de gordura corporal bem descrita na literatura, tanto em modelos de estudos em animais (Araujo e cols. 2008; Passadore e cols. 2004), como em humanos (Redman e cols. 2007; Ross e cols. 2000; Weiss e Holloszy 2007).

Lanni e cols. (2005) encontraram redução significativa no tecido adiposo dos ratos tratados com 3,5 T2 em relação aos animais que receberam somente a dieta hiperlipídica. Entretanto, apesar do tratamento com 3,5 T2 não ter promovido uma redução significativa nos compartimentos de gorduras retroperitoneal e epididimal, foi observada uma diminuição significativa no ganho de peso dos animais tratados, sugerindo que o mesmo possa estar ocorrendo devido à redução de massa em outros compartimentos de gordura ou de massa magra.

É bem conhecido na clínica e em pesquisas científicas o fato de que a ação dos hormônios tireóideos tem profundas conseqüências para o coração. O hipertireoidismo pode ser prejudicial ao sistema cardiovascular por conseqüência da ação direta dos elevados níveis circulatórios de T4 e T3. As implicações dos

hormônios tireóideos aumentados sobre o sistema cardiovascular variam da fibrilação atrial, insuficiência cardíaca congestiva ao colapso hemodinâmico, e constituem a chamada doença cardíaca tireotóxica. Potencialmente, o hipertireoidismo poderia estar associado com o aumento da mortalidade em pacientes de todas as idades (Kim e cols. 2004; Agaçi 2004).

Os hormônios tireóideos influenciam diretamente o processo de contração e relaxamento cardíaco. A expressão do gene que codifica a bomba de cálcio (Ca^{++} ATPase) do retículo sarcoplasmático (SERCa2) é marcadamente responsivo ao T3 (Rohrer e cols. 1991; Zarain-Herzberg e cols. 1994; Wu e cols. 1997). A liberação de cálcio e a sua recaptação para o interior do retículo sarcoplasmático são determinantes críticos da função contrátil sistólica e relaxamento diastólico (Fazio e cols. 2004). A codificação do RNAm para o canal de rianodina, canal de cálcio do retículo sarcoplasmático, é também marcadamente estimulada pelos HT (Arai e cols. 1991 apud Kahaly e Dillmann 2005). O aumentado número dos canais de rianodina resulta em aumentada liberação de cálcio, induzida por T3, do retículo sarcoplasmático durante a sístole e provavelmente, em grande parte, para o aumento da atividade contrátil sistólica do coração hipertireóideo (Ojamaa e cols. 1999). O hipertireoidismo aumenta também a síntese protéica total no miócito cardíaco, resultando em aumentado peso do coração e um leve grau de hipertrofia cardíaca (Klein e Hong, 1986).

O T3 também apresenta ações não genômicas ligadas a função cardíaca, e estimulando a atividade da Ca^{++} ATPase bem como o movimento do cálcio através da membrana, devido a modificações em canais de cálcio (Mylotte e cols. 1985). Além

disso, também ocorre o aumento na atividade da $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ cardíaca induzido por T3 (Orlowski e Lingrel, 1990).

Estudos de vários componentes do complexo receptor-adrenérgico na membrana plasmática também mostraram que os receptores β -adrenérgicos e a proteína Gs são positivamente reguladas pelos HT (Kahaly e Dillmann, 2005). Estudo realizado por Carvalho-Bianco e cols. (2004), no qual a D2 era expressa em miócitos cardíacos de camundongos, resultaram em aumentada produção local de T3. Estes animais apresentaram diminuída expressão da proteína G inibitória $\text{Gi}\alpha\text{-3}$ e aumentado acúmulo de AMPc, indicando um aumento na via β -adrenérgica.

Nossos resultados apresentam um aumento na relação do peso do coração com relação à massa corporal no grupo que recebeu a maior dose de 3,5 T2 em relação ao grupo controle, porém os demais grupos experimentais não apresentaram diferença significativa. Horst e cols (1995) encontraram resultado semelhante, no qual o tratamento com 3,5 T2 durante 3 meses, na dose de $25\mu\text{g}/100\text{ g p.c.}$, não promoveu aumento do órgão, entretanto quando utilizada uma dose mais elevada ($250\mu\text{g}/100\text{ g p.c.}$) também foi observado o aumento no peso do coração.

Lanni e cols. (2005) enfatizam em seu estudo a não ocorrência do aumento cardíaco pelo tratamento com 3,5-T2, entretanto este estudo foi realizado durante o período de apenas um mês e utilizou a dose de $25\mu\text{g}/100\text{ g p.c.}$. Desta forma, é importante ressaltar o potencial efeito da 3,5-T2 em gerar cardiomegalia e/ou aumento da relação peso do coração pela massa corporal, quando utilizada em maiores doses, e fica evidenciado que esta droga pode agir sobre o sistema cardiovascular.

O tratamento com 3,5-T₂, em todas as doses utilizadas, promoveu redução significativa dos níveis plasmáticos de T₃ e T₄ de forma dose dependente, entretanto os resultados apresentados por Lanni e cols. (2005), nos quais a administração da mesma droga, durante o período de 1 mês, não apresentou nenhuma influência sobre os níveis plasmáticos dos hormônios tireóideos. Entretanto, Horst e cols. (1995), também descreveram a capacidade da 3,5-T₂ em reduzir significativamente o nível plasmático de T₄ de maneira dose dependente em um período de apenas duas semanas de tratamento.

Sabe-se que o TSH é o principal regulador da glândula tireóide, estimulando a síntese e secreção dos hormônios tireóideos, sendo regulado negativamente pelos mesmos (Yen, 2001).

Nossos resultados demonstraram que, apesar das concentrações plasmáticas dos HT encontrarem-se significativamente reduzidas, as médias dos níveis séricos de TSH não diferiram do grupo controle em nenhum dos grupos tratados com 3,5-T₂. Entretanto nos grupos que receberam as dose de 50 e 75µg/100 g p.c., alguns animais apresentaram concentrações plasmáticas de TSH ainda inferiores ao limite de detecção do radioimunoensaio. Contrariamente aos nossos resultados, Horst e cols. (1995), demonstraram a redução dos níveis séricos de TSH, de forma dose dependente, em animais tratados com 3,5-T₂, tanto por duas semanas como durante um período de três meses. Moreno e cols. (1998), também demonstraram a influência do tratamento com 3,5-T₂ sobre os níveis plasmáticos de TSH, porém em animais hipotireóideos (induzido por PTU e ácido iopanóico), nos quais o tratamento com T₂ promoveu uma diminuição significativa nas concentrações plasmáticas de TSH,

fazendo com que as mesmas retornassem a valores semelhantes aos dos animais controle. Todavia, mais recentemente, Lanni e cols. (2005), não observaram nenhuma influência do tratamento com 3,5-T₂, durante período de 1 mês, sobre os níveis plasmáticos de TSH.

Nossos resultados indicam uma influência direta do tratamento sobre o eixo de regulação das concentrações plasmáticas dos hormônios tireóideos, agindo tanto sobre a tireóide quanto sobre a hipófise. Uma vez que os animais tratados apresentam níveis plasmáticos de TSH normais, seria esperado encontrarmos concentrações plasmáticas normais dos HT, entretanto estas se encontram reduzidas, e de forma dose dependentes, sugerindo a ação direta do tratamento sobre os processos de síntese e/ou de secreção dos HT. Outra possibilidade para a redução dos níveis séricos de T₄ e T₃, apesar de concentrações normais de TSH, pode ser devido a diminuição da bioatividade do TSH (Oliveira e cols. 2007). Da mesma forma, atentamos para o fato de que com valores tão reduzidos dos HT, as concentrações de TSH não se encontravam elevadas, sugerindo a ação direta da 3,5-T₂ também sobre a hipófise inibindo a síntese e/ou a liberação de TSH.

Horst e cols. (1995) observaram o efeito supressivo dose dependente da 3,5-T₂ sobre a secreção de TSH, a partir de fragmentos de hipófises de ratos *in vitro*, demonstrando que o 3,5-T₂ é um agonista específico no mecanismo de *feedback* negativo na secreção de TSH pela hipófise, sem excluir possíveis influências adicionais nos níveis de TRH.

Em nosso trabalho não foi observada a influência da restrição alimentar sobre os níveis plasmáticos dos hormônios tireóideos, como apresentado por Araujo

e cols. (2008), em ratos e por Blum e cols.(1985), em bovinos, ao passo que Fontana e cols. (2006), Marine e cols. (1991), observaram apenas redução da concentração plasmática de T3 em indivíduos submetidos a restrição. Durante a restrição, a redução somente da concentração de T3 sem alterar os níveis de T4 e TSH pode ser atribuída a uma diminuição na taxa de produção extra-tireoidea, enquanto que o aumento de rT3 é atribuído a uma menor taxa de clearance. A provável explicação destas alterações parece ser pelo decréscimo na atividade da D1, que cataliza tanto a desidiação 5' do T4 a T3 e também do rT3 a 3,3'-diiodotironina (Silvestri e cols. 2005; Danforth e Burger, 1989), enquanto que a redução promovida tanto nos valores de T3 quanto de T4 e TSH simultaneamente, talvez possa ocorrer devido a alterações centrais, pelo aumento da atividade da D2 hipotalâmica, aumentando a concentração local de T3, com isso inibindo a produção hipotalâmica de TRH (Coppola e cols. 2005; Diano e cols. 1998). Há a possibilidade ainda da ação de outro sinal não tireóideo que poderia estar envolvido nas alterações ocorridas no eixo tireóideo pela restrição. Os níveis de leptina aumentam com poucas horas após uma refeição em roedores e após alguns dias de hiperalimentação em humanos. Inversamente, a leptina diminui em horas em resposta ao jejum em humanos e roedores. Assim, a magnitude das alterações nos valores de leptina em resposta ao jejum e à hiperalimentação não são proporcionais às alterações no conteúdo de tecido adiposo, sugerindo que a leptina possa servir como sinal informando ao cérebro sobre o status do balanço energético (Ahima e cols. 2000). Como demonstrado por Ahima e cols. (1996) e Légrádi e cols. (1997), a supressão do eixo tireóideo observada durante o jejum pode ser revertida pela administração de leptina. Além disso, Légrádi e cols.

(1997), demonstraram que a redução no RNAm do pro-TRH nos neurônios hipofisiotróficos do núcleo paraventricular hipotalâmico, induzida pelo jejum, pode ser prevenida pela administração de leptina, indicando que a queda nos níveis circulantes de leptina pode agir como um sinal crítico para os neurônios hipofisiotróficos no núcleo paraventricular, redefinindo o “set point” para o “feedback” e assim para a regulação da expressão do gene do pro-TRH pelos hormônios tireóideos.

A ingestão alimentar afeta o gasto energético nos animais. A restrição alimentar, hiperalimentação ou jejum podem alterar o gasto energético bem como a composição corporal dos animais (Luz e cols. 1995). Reduções no gasto energético durante a restrição alimentar ou o jejum estão amplamente descritos na literatura e representam um mecanismo de conservação de energia (Araujo e cols. 2008; Passadore e cols. 2004; Santos-Pinto e cols. 2001; Luz e cols. 1995), prevenindo a perda excessiva de peso. Este mecanismo ocorre independente do estágio de desenvolvimento, espécie e gênero, sendo proporcional à intensidade da restrição alimentar (Santos-Pinto e cols. 2001), e não apresentando relação com a maneira que a restrição é imposta, na medida em que ratos submetidos à constante ou intermitente restrição alimentar apresentaram similares alterações metabólicas (Luz e cols.1995), incluindo perda de peso e a redução do gasto energético. Os mecanismos de conservação de energia são ativados até com pequenos níveis de restrição energética e permanecem ativos enquanto a privação de alimento persistir (Santos-Pinto e cols. 2001).

Em nosso estudo, a restrição alimentar também promoveu redução no

consumo de oxigênio em comparação ao grupo controle, corroborando com os dados presentes na literatura, demonstrando a capacidade dos animais submetidos à restrição em ativar mecanismos de conservação de energia, descritos em diferentes espécies e estados fisiológicos tal como crescimento, e durante a gravidez (Luz e cols. 1995).

Em 1989 Horst e cols., demonstraram que o 3,5-T2 é um metabólito dos hormônios tireóideos que é metabolicamente ativo, rapidamente aumentando o consumo de oxigênio mitocondrial hepático, em concentrações tão pequenas como 1 pM. Desde então, inúmeros outros estudos avaliaram e demonstraram a capacidade do 3,5-T2 em promover aumento no consumo de oxigênio no animal inteiro (Cimmino e cols. 1996; Lanni e cols. 1996; Moreno e cols. 1997; Moreno e cols. 2002), entretanto estes estudos utilizaram modelo animal no qual foi induzido o hipotireoidismo, pela utilização de ácido iopanóico e propiltiuracil (PTU), com intuito de inibir todos os diferentes tipos das enzimas desiodases, para poder se atribuir ao 3,5-T2 o resultado encontrado, uma vez que o mesmo na presença das desiodases ativas poderia sofrer ação destas, sendo convertido a uma diferente iodotironina.

Nossos resultados não apresentam diferença significativa no consumo de oxigênio entre o grupo controle e os animais tratados com 3,5-T2 (dose 75 μ g/100 g p.c.) ao final do experimento. Entretanto, estes mesmos animais apresentaram níveis plasmáticos de T3 e T4 muito abaixo dos animais controle, desta forma, esperaríamos encontrar valores diminuídos para o consumo de oxigênio, como observado por Cimmino e cols. 1996; Lanni e cols. 1996; Moreno e cols. 1997; Moreno e cols. 2002,

em animais tratados com PTU e ácido iopanóico, que também apresentavam valores significativamente reduzidos de T3 e T4, uma vez que os hormônios tireóideos são um dos principais estimuladores da taxa metabólica basal. Desta forma, podemos aventar que o consumo de oxigênio dos animais tratados com 3,5-T2 esteja sendo mantido em similar magnitude ao dos animais controle devido à ação do 3,5-T2, evidenciando um real efeito do mesmo sobre o gasto energético.

A linhagem de ratos Wistar é descrita como um importante modelo de estudo da obesidade, pelo desenvolvimento gradual do sobrepeso que ocorre juntamente com o envelhecimento, processo similar ao observado nos humanos, que também apresentam muitas populações com elevada prevalência de obesidade de acordo com o envelhecimento. Além disso, apresenta juntamente com ganho de peso o desenvolvimento da resistência insulínica (Seraphim e cols. 2001).

Podemos observar o desenvolvimento da resistência insulínica ao longo do nosso experimento, estabelecida nos animais com seis meses de idade em relação aos animais com três meses de idade, através da comparação da área sob a curva, obtida pelo teste de tolerância a glicose. Seraphim e cols. 2001, também observaram uma melhora na sensibilidade à insulina em animais com 12 meses de idade que foram submetidos à restrição alimentar quando comparados a animais controle de mesma idade.

Inúmeros estudos em humanos também demonstram a melhora na tolerância à glicose promovida pela restrição alimentar tanto em mulheres como em homens (Weiss e Holloszy, 2007; Weiss e cols. 2006; Larson-Meyer e cols. 2006), com IMC normal (Weiss e Holloszy, 2007; Weiss e cols. 2006), ou com sobrepeso (Larson-Meyer

e cols. 2006).

A resistência insulínica é uma das alterações comuns observadas no hipertireoidismo (Dimitriadis e cols. 2006. a). O aumento da insulinemia de jejum no hipertireoidismo humano, pode estar associado a níveis normais ou elevados de glicose plasmática. Esta resistência insulínica observada no hipertireoidismo é resultado principalmente da acelerada produção de glicose hepática (Goto e cols. 1997), sendo descrita por Dimitriadis e cols. (2006. a), resistência a ação da insulina em tecido adiposo humano e por Goto e colaboradores (1997), em tecido adiposo de ratos hipertireóides. Entretanto, Dimitriadis e cols. (1997), observaram aumento da captação de glicose em músculo solear de ratos hipertireóides.

Todavia, nenhum estudo até a presente data relacionou a influência do 3,5-T2 sobre o metabolismo da glicose e nossos resultados demonstraram uma ação benéfica do tratamento, em todas as doses administradas, observada no teste de tolerância a glicose, sugerindo assim a ação de 3,5-T2 também sobre o “clearance” da glicose.

7. CONCLUSÕES

O tratamento com 3,5-T2 foi eficaz em reduzir parcialmente o ganho de peso que ocorre naturalmente ao longo do tempo em ratos Wistar, enquanto a restrição alimentar de 40% impediu completamente o ganho de massa corporal. Somente a restrição alimentar promoveu redução significativa dos compartimentos de gordura retroperitoneal e epididimal de gordura ou até mesmo por perda de massa magra.

A administração de 3,5-T2 apresentou uma ação direta sobre o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, tanto em relação à glândula tireóide, promovendo redução das concentrações plasmáticas de T3 e T4 como possivelmente também em relação à hipófise, mantendo os níveis plasmáticos de TSH dentro dos valores normais apesar de reduzidos níveis de T3 e T4.

Apesar de não haver diferença entre o consumo de oxigênio do grupo controle e o grupo tratado com 3,5-T2 (dose 75 μ g/100 g p.c.), devemos ressaltar que estes animais apresentam níveis plasmáticos reduzidos de T3 e T4, demonstrando que o 3,5-T2 pode ser o responsável pela manutenção do consumo de oxigênio.

Tanto a restrição alimentar como o tratamento com 3,5-T2 melhoraram a resposta ao teste de tolerância à glicose ao final do tratamento, impedindo o desenvolvimento da resistência insulínica que ocorre durante o envelhecimento nesta linhagem de ratos Wistar.

Nossos resultados questionam a utilização deste metabólito dos hormônios tireóideos com o intuito de combater o desenvolvimento do sobrepeso e da obesidade, devido aos possíveis efeitos colaterais cardíacos, uma vez que a maior dose de 3,5-T2 (75 μ g/100 g p.c.) promoveu aumento da massa cardíaca, além do

indesejado efeito sobre o eixo tireóideo.

8. REFERÊNCIAS

AGAÇI, F. Clinical aspects of hyperthyroidism in hospitalized patients in Albania. **Hormones (Athens)**. 2004 Jan-Mar;3(1):53-8.

AHIMA, R.S.; PRABAKARAN, D.; MANTZOROS, C.; QU, D.; LOWELL, B.; MARATOS-FLIER, E.; FLIER, J.S. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature**. 1996 Jul 18;382(6588):250-2.

AHIMA, R.S.; SAPER, C.B.; FLIER, J.S.; ELMQUIST, J.K. Leptin regulation of neuroendocrine systems. **Front Neuroendocrinol**. 2000 Jul;21(3):263-307.

ANGULO, P. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease. **Ann Hepatol**. 2002 Jan-Mar;1(1):12-9.

ARAI, M.; OTSU, K.; MACLENNAN, D.H.; ALPERT, N.R.; PERIASAMY, M. Effect of thyroid hormone on the expression of mRNA encoding sarcoplasmic reticulum proteins. **Circ Res**. 1991 Aug;69(2):266-76.

ARAÚJO, R.L.; DE ANDRADE, B.M.; DE FIGUEIREDO, A.S.; DA SILVA, M.L.; MARASSI, M.P.; PEREIRA, V. DOS S.; BOUSKELA, E.; CARVALHO, D.P. Low replacement doses of thyroxine during food restriction restores type 1 deiodinase activity in rats and promotes body protein loss. **J Endocrinol**. 2008 Jul;198(1):119-25. Epub 2008 Apr 22.

ARRUDA, A.P.; DA-SILVA, W.S.; CARVALHO, D.P.; DE MEIS, L. Hyperthyroidism increases the uncoupled ATPase activity and heat production by the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. **The Biochemical journal**. 2003 Nov 1;375(Pt 3):753-60.

ARSENIJEVIC, D.; ONUMA, H.; PECQUEUR, C.; RAIMBAULT, S.; MANNING, B.S.; MIROUX, B.; COUPLAN, E.; ALVES-GUERRA, M.C.; GOUBERN, M.; SURWIT, R.; BOUILLAUD, F.; RICHARD, D.; COLLINS, S.; RICQUIER, D. Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. **Nature Genetics**. 2000 Dec;26(4):435-9.

AUBERT, J.; CHAMPIGNY, O.; SAINT-MARC, P.; NEGREL, R.; COLLINS, S.; RICQUIER, D.; AILHAUD, G. Up-regulation of UCP-2 gene expression by PPAR agonists in preadipose and adipose cells. **Biochemical and biophysical research communications**. 1997 Sep 18;238(2):606-11.

BASSETT, J.H.; WILLIAMS, G.R. Critical role of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in bone. **Bone**. 2008 Sep;43(3):418-26. Epub 2008 May 16.

BIANCO, A.C.; SALVATORE, D.; GEREBEN, B.; BERRY, M.J.; LARSEN, P.R. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. **Endocrine Reviews**. 2002 Feb;23(1):38-89.

BIANCO, A.C.; MAIA, A.L.; DA SILVA, W.S.; CHRISTOFFOLETE, M.A. Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure. **Bioscience reports**. 2005 Jun-Aug;25(3-4):191-208.

BLUM, J.W.; SCHNYDER, W.; KUNZ, P.L.; BLOM, A.K.; BICKEL, H.; SCHÜRCH, A. Reduced and compensatory growth: endocrine and metabolic changes during food restriction and refeeding in steers. **J Nutr**. 1985 Apr;115(4):417-24.

BOSS, O.; SAMEC, S.; PAOLONI-GIACOBINO, A.; ROSSIER, C.; DULLOO, A.; SEYDOUX, J.; MUZZIN, P.; GIACOBINO, J.P. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. **FEBS Lett**. 1997 May 12;408(1):39-42.

BRUN, S.; CARMONA, M.C.; MAMPEL, T.; VIÑAS, O.; GIRALT, M.; IGLESIAS, R.; VILLARROYA, F. Activators of peroxisome proliferator-activated receptor- α induce the expression of the uncoupling protein-3 gene in skeletal muscle: a potential mechanism for the lipid intake-dependent activation of uncoupling protein-3 gene expression at birth. **Diabetes**. 1999 Jun;48(6):1217-22.

CANEPARI, M.; CAPPELLI, V.; PELLEGRINO, M.A.; ZANARDI, M.C.; REGGIANI, C. Thyroid hormone regulation of MHC isoform composition and myofibrillar ATPase activity in rat skeletal muscles. **Archives of physiology and biochemistry**. 1998 Oct;106(4):308-15.

CANOY, D.; BUCHAN, I. Challenges in obesity epidemiology. **Obes Rev**. 2007 Mar;8 Suppl 1:1-11.

CARVALHO-BIANCO, S.D.; KIM, B.W.; ZHANG, J.X.; HARNEY, J.W.; RIBEIRO, R.S.; GERESEN, B.; BIANCO, A.C.; MENDE, U.; LARSEN, P.R. Chronic cardiac-specific thyrotoxicosis increases myocardial beta-adrenergic responsiveness. **Mol Endocrinol**. 2004 Jul;18(7):1840-9. Epub 2004 May 6.

CASLA, A.; ARRIETA, F.; GRANT, C.; CASANOVA, B.; ROVIRA, A. Effect of short- and long-term experimental hyperthyroidism on plasma glucose level and insulin secretion during an intravenous glucose load and on insulin binding, insulin receptor kinase activity, and insulin action in adipose tissue. **Metabolism**. 1993 Jul;42(7):814-21.

CHOPRA, I.J.; SOLOMON, D.H.; CHOPRA, U.; WU, S.Y.; FISHER, D.A.; NAKAMURA, Y. Pathways of metabolism of thyroid hormones. **Recent Prog Horm Res**. 1978 34:521-67.

CHI, M.M.; HINTZ, C.S.; HENRIKSSON, J.; SALMONS, S.; HELLEND AHL, R.P.; PARK, J.L.; NEMETH, P.M.; LOWRY, O.H. Chronic stimulation of mammalian muscle: enzyme changes in individual fibers. **Am J Physiol**. 1986 Oct;251(4 Pt

1):C633-42.

CIMMINO, M.; MION, F.; GOGLIA, F.; MINAIRE, Y.; GÉLOËN, A. Demonstration of in vivo metabolic effects of 3,5 diiodothyronine. **Journal of Endocrinology**. May 1996 149, (2) 319-325.

COPPOLA, A.; MELI, R.; DIANO, S. Inverse shift in circulating corticosterone and leptin levels elevates hypothalamic deiodinase type 2 in fasted rats. **Endocrinology**. 2005 Jun;146(6):2827-33. Epub 2005 Mar 3.

CORREZE, C.; KRUG, E.; VERHAEGEN, M.; NUNEZ, J. Regulation of lipogenesis in adipocytes. Independent effects of thyroid hormones, cyclic AMP and insulin on the uptake of deoxy-D-glucose. **Biochim Biophys Acta**. 1979 Jul 27;574(1):164-72.

CORVILAIN, B.; VAN SANDE, J.; DUMONT, J.E. Inhibition by iodide of iodide binding to proteins: the "Wolff-Chaikoff" effect is caused by inhibition of H₂O₂ generation. **Biochem Biophys Res Commun** 1988;154:1287.

CROTEAU, W.; DAVEY, J.C.; GALTON, V.A.; ST GERMAIN, D.L. Cloning of the mammalian type II iodothyronine deiodinase. A selenoprotein differentially expressed and regulated in human and rat brain and other tissues. **The Journal of clinical investigation**. 1996 Jul 15;98(2):405-17.

DANFORTH, E. JR.; BURGER, A.G. The impact of nutrition on thyroid hormone physiology and action. **Annu Rev Nutr**. 1989;9:201-27.

DAVIDSON, R.T.; ARIAS, E.B.; CARTEE, G.D. Calorie restriction increases muscle insulin action but not IRS-1-, IRS-2-, or phosphotyrosine-PI 3-kinase. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. 2002 Feb;282(2):E270-6.

DE DEKEN, X.; WANG, D.; MANY, M.C.; COSTAGLIOLA, S.; LIBERT, F.; VASSART, G.; DUMONT, J.E.; MIOT, F. Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. **J Biol Chem**. 2000;275:23227-33.

DE LANGE, P.; LANNI, A.; BENEDEUCE, L.; MORENO, M.; LOMBARDI, A.; SILVESTRI, E.; GOGLIA, F. Uncoupling protein-3 is a molecular determinant for the regulation of resting metabolic rate by thyroid hormone. **Endocrinology**. 2001 Aug;142(8):3414-20.

DE MEIS, L. Role of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase on heat production and thermogenesis. **Bioscience reports**. 2001 Apr;21(2):113-37

DE MEIS, L.; ARRUDA, A.P.; DA-SILVA, W.S.; REIS, M.; CARVALHO, D.P. The thermogenic function of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase of normal and hyperthyroid rabbit. **Ann N Y Acad Sci**. 2003 Apr;986:481-8.

DESAI-YAJNIK, V.; ZENG, J.; OMORI, K.; SHERMAN, J.; MORIMOTO, T. The effect of thyroid hormone treatment on the gene expression and enzyme activity of rat liver sodium-potassium dependent adenosine triphosphatase. **Endocrinology**. 1995 Feb;136(2):629-39.

DIANO, S.; NAFTOLIN, F.; GOGLIA, F.; HORVATH, T.L. Fasting-induced increase in type II iodothyronine deiodinase activity and messenger ribonucleic acid levels is not reversed by thyroxine in the rat hypothalamus. **Endocrinology**. 1998 Jun;139(6):2879-84.

DIAZ, E.O.; PRENTICE, A.M.; GOLDBERG, G.R.; MURGATROYD, P.R.; COWARD, W.A. Metabolic response to experimental overfeeding in lean and overweight healthy volunteers. **Am J Clin Nutr**. 1992 Oct;56(4):641-55.

DIMITRIADIS, G.; BAKER, B.; MARSH, H.; MANDARINO, L.; RIZZA, R.; BERGMAN, R.; HAYMOND, M.; GERICH, J. Effect of thyroid hormone excess on action, secretion, and metabolism of insulin in humans. **Am J Physiol**. 1985 May;248(5 Pt 1):E593-601.

DIMITRIADIS, G.; PARRY-BILLINGS, M.; BEVAN, S.; LEIGHTON, B.; KRAUSE, U.; PIVA, T.; TEGOS, K.; CHALLISS, R.A.; WEGENER, G.; NEWSHOLME, E.A. The effects of insulin on transport and metabolism of glucose in skeletal muscle from hyperthyroid and hypothyroid rats. **Eur J Clin Invest**. 1997 Jun;27(6):475-83.

DIMITRIADIS, G.; MITROU, P.; LAMBADIARI, V.; BOUTATI, E.; MARATOU, E.; KOUKKOU, E.; TZANELA, M.; THALASSINOS, N.; RAPTIS, S.A. Glucose and lipid fluxes in the adipose tissue after meal ingestion in hyperthyroidism. **J Clin Endocrinol Metab**. 2006 Mar;91(3):1112-8. Epub 2005 Dec 29. a.

DIMITRIADIS, G.; MITROU, P.; LAMBADIARI, V.; BOUTATI, E.; MARATOU, E.; PANAGIOTAKOS, D.B.; KOUKKOU, E.; TZANELA, M.; THALASSINOS, N.; RAPTIS, S.A. Insulin action in adipose tissue and muscle in hypothyroidism. **J Clin Endocrinol Metab**. 2006 Dec;91(12):4930-7. Epub 2006 Sep 26. b.

DIMITRIADIS, G.D. ; RAPTIS, S.A. Thyroid hormone excess and glucose intolerance. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**. 2001;109 Suppl 2:S225-39.

DIRKS, A.J.; LEEUWENBURGH, C. Caloric restriction in humans: potential pitfalls and health concerns. **Mech Ageing Dev**. 2006 Jan;127(1):1-7.

DOHAN, O.; DE LA VIEJA, A.; PARODER, V.; RIEDEL, C.; ARTANI, M.; REED, M.; GINTER, C.S.; CARRASCO, N. The sodium/iodide symporter (NIS): characterization, regulation, and medical significance. **Endocr Rev**. 2003;24:48-77.

DUPUY, C.; OHAYON, R.; VALENT, A.; NOEL-HUDSON, M.S.; DÈME, D.; VIRION, A. Purification of a novel flavoprotein involved in the thyroid NADPH oxidase. **J Biol Chem** 1999; 274:37265.

ELSE, P.L.; HULBERT, A.J. Comparison of the "mammal machine" and the "reptile machine": energy production. **The American journal of physiology**. 1981 Jan;240(1):R3-9.

ENERBÄCK, S.; JACOBSSON, A.; SIMPSON, E.M.; GUERRA, C.; YAMASHITA, H.; HARPER, M.E.; KOZAK, L.P. Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese. **Nature**. 1997 May 1;387(6628):90-4.

ENG, P.H.; CARDONA, G.R.; FANG, S.L.; PREVITI, M.; ALEX, S.; CARRASCO, N.; CHIN, W.W.; BRAVERMAN, L.E. Escape from acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. **Endocrinology**. 1999;140:3404-10.

ESKANDARI, S.; LOO, D.D.F.; DAI, G.; LEVY, O.; WRIGHT, E.M.; CARRASCO, N. Thyroid Na⁺/I⁻ Symporter - mechanism, stoichiometry, and specificity. **J Biol Chem**. 1997;272:27230-8.

FARNSWORTH, E.; LUSCOMBE, N.D.; NOAKES, M.; WITTERT, G.; ARGYIOU, E.; CLIFTON, P.M. Effect of a high-protein, energy-restricted diet on body composition, glycemic control, and lipid concentrations in overweight and obese hyperinsulinemic men and women. **Am J Clin Nutr**. 2003 Jul;78(1):31-9.

FAZIO, S.; PALMIERI, E.A.; LOMBARDI, G.; BIONDI, B. Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system. **Recent Prog Horm Res**. 2004;59:31-50.

FERREIRA, A.C.; LIMA, L.P.; ARAÚJO, R.L.; MÜLLER, G.; ROCHA, R.P.; ROSENTHAL, D.; CARVALHO, D.P. Rapid regulation of thyroid sodium-iodide symporter activity by thyrotrophin and iodine. **J Endocrinol**. 2005 Jan;184(1):69-76.

FINER, N.; BLOOM, S.R.; FROST, G.S.; BANKS, L.M.; GRIFFITHS, J. Sibutramine is effective for weight loss and diabetic control in obesity with type 2 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. **Diabetes Obes Metab**. 2000 Apr;2(2):105-12.

FLEURY, C.; MIGNOTTE, B.; VAYSSIÈRE, J.L. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. **Biochimie**. 2002 Feb-Mar;84(2-3):131-41.

FOLKE, M.; SESTOFT, L. Thyroid calorigenesis in isolated, perfused rat liver: minor role of active sodium-potassium transport. **The Journal of physiology**. 1977 Jul;269(2):407-19.

FONTANA, L.; KLEIN, S.; HOLLOSZY, J.O.; PREMACHANDRA, B.N. Effect of long-term calorie restriction with adequate protein and micronutrients on thyroid hormones. **J Clin Endocrinol Metab**. 2006 Aug;91(8):3232-5. Epub 2006 May 23.

GARCÍA-MARTINEZ, C.; SIBILLE, B.; SOLANES, G.; DARIMONT, C.; MACÉ, K.; VILLARROYA, F.; GÓMEZ-FOIX, A.M. Overexpression of UCP3 in cultured human muscle lowers mitochondrial membrane potential, raises ATP/ADP ratio, and favors fatty acid vs. glucose oxidation. **FASEB J.** 2001 Sep;15(11):2033-5. Epub 2001 Jul 24.

GAZDAG, A.C.; DUMKE, C.L.; KAHN, C.R.; CARTEE, G.D. Calorie restriction increases insulin-stimulated glucose transport in skeletal muscle from IRS-1 knockout mice. **Diabetes.** 1999 Oct;48(10):1930-6.

GILAT, T.; LEIKIN-FRENKEL, A.; GOLDINER, I.; JUHEL, C.; LAFONT, H.; GOBBI, D.; KONIKOFF, F.M. Prevention of diet-induced fatty liver in experimental animals by the oral administration of a fatty acid bile acid conjugate (FABAC). **Hepatology.** 2003 Aug;38(2):436-42.

GILTAY, E.J.; LAMBERT, J.; ELBERS, J.M.; GOOREN, L.J.; ASSCHEMAN, H.; STEHOUWER, C.D. Arterial compliance and distensibility are modulated by body composition in both men and women but by insulin sensitivity only in women. **Diabetologia**, 1999. 42(2): p. 214-21.

GIMENO, R.E.; DEMBSKI, M.; WENG, X.; DENG, N.; SHYJAN, A.W.; GIMENO, C.J.; IRIS, F.; ELLIS, S.J.; WOOLF, E.A.; TARTAGLIA, L.A. Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog: a potential molecular mediator of human thermogenesis. **Diabetes.** 1997 May;46(5):900-6.

GOGLIA, F.; LANNI, A.; BARTH, J.; KADENBACH, B. Interaction of diiodothyronines with isolated cytochrome c oxidase. **FEBS Lett.** 1994 Jun 13;346(2-3):295-8.

GOGLIA, F. Biological effects of 3,5-diiodothyronine (T2). **Biochemistry (Mosc).** 2005 Feb;70(2):164-72.

GOLOZOUBOVA, V.; HOHTOLA, E.; MATTHIAS, A.; JACOBSSON, A.; CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Only UCP1 can mediate adaptive nonshivering thermogenesis in the cold. **FASEB J.** 2001 Sep;15(11):2048-50.

GONG, D.W.; HE, Y.; KARAS, M.; REITMAN, M. Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone, beta3-adrenergic agonists, and leptin. **The Journal of biological chemistry.** 1997 Sep 26;272(39):24129-32. Gong et al. 1997

GONG, D.W. MONEMDJOU, S.; GAVRILOVA, O.; LEON, L.R.; MARCUS-SAMUELS, B.; CHOU, C.J.; EVERETT, C.; KOZAK, L.P.; LI, C.; DENG, C.; HARPER, M.E.; REITMAN, M.L. Lack of obesity and normal response to fasting and thyroid hormone in mice lacking uncoupling protein-3. **The Journal of biological chemistry.** 2000 May 26;275(21):16251-7.

GOTO, H.; SUMIDA, Y.; NAKATANI, K.; YANO, Y.; SHIMA, T. Effect of triiodothyronine on glucose transport in rat adipocytes. **Life Sci.** 1997;61(2):193-204.

GOUVEIA, C.H.; JORGETTI, V.; BIANCO, A.C. Effects of thyroid hormone administration and estrogen deficiency on bone mass of female rats. **Journal of bone and mineral research.** 1997 Dec;12(12):2098-107.

HARPER, M.E.; BRAND, M.D. The quantitative contributions of mitochondrial proton leak and ATP turnover reactions to the changed respiration rates of hepatocytes from rats of different thyroid status. **The Journal of biological chemistry.** 1993 Jul 15;268(20):14850-60.

HEATON, G.M.; WAGENVOORD, R.J.; KEMP, A JR.; NICHOLLS, D.G. Brown-adipose-tissue mitochondria: photoaffinity labelling of the regulatory site of energy dissipation. **European Journal of Biochemistry.** 1978 Jan 16;82(2):515-21.

HEILBRONN, L.K.; DE JONGE, L.; FRISARD, M.I.; DELANY, J.P.; LARSON-MEYER, D.E.; ROOD, J.; NGUYEN, T.; MARTIN, C.K.; VOLAUFOVA, J.; MOST, M.M.; GREENWAY, F.L.; SMITH, S.R.; DEUTSCH, W.A.; WILLIAMSON, D.A.; RAVUSSIN, E.; PENNINGTON CALERIE TEAM. Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial. **JAMA.** 2006 Apr 5;295(13):1539-48. **Erratum in: JAMA.** 2006 Jun 7;295(21):2482.

HEILBRONN, L.K.; RAVUSSIN, E. Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. **Am J Clin Nutr.** 2003 Sep;78(3):361-9.

HETZEL, B.S.; DUNN, J.T. The iodine deficiency disorders: their nature and prevention. **Annu Rev Nutr.** 1989 9:21-38.

HEYMAN, M.B.; YOUNG, V.R.; FUSS, P.; TSAY, R.; JOSEPH, L.; ROBERTS, S.B. Underfeeding and body weight regulation in normal-weight young men. **Am J Physiol.** 1992 Aug;263(2 Pt 2):R250-7.

HILL, J.O.; SPARLING, P.B.; SHIELDS, T.W.; HELLER, P.A. Effects of exercise and food restriction on body composition and metabolic rate in obese women. **Am J Clin Nutr.** 1987 Oct;46(4):622-30.

HILL, J.O. Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective. **Endocr Rev.** 2006 Dec;27(7):750-61. Epub 2006 Nov 22.

HORST, C.; HARNEIT, A.; SEITZ, H.J.; ROKOS, H. 3,5-Di-iodo-L-thyronine suppresses TSH in rats in vivo and in rat pituitary fragments in vitro. **The journal of endocrinology.** 1995 May;145(2):291-7.

HORST, C.; ROKOS, H.; SEITZ, H.J. Rapid stimulation of hepatic oxygen consumption by 3,5-di-iodo-L-thyronine. **The Biochemical journal**. 1989 Aug 1;261(3):945-50.

HULBERT, A.J. Thyroid hormones and their effects: a new perspective. **Biol Rev Camb Philos Soc**. 2000 Nov;75(4):519-631.

IZUMO, S.; NADAL-GINARD, B.; MAHDAVI, V. All members of the MHC multigene family respond to thyroid hormone in a highly tissue-specific manner. **Science**. 1986 Feb 7;231(4738):597-600.

JAMES, P.T. Obesity: the worldwide epidemic. **Clin Dermatol**. 2004 Jul-Aug;22(4):276-80.

JAMES, W.P. The epidemiology of obesity: the size of the problem. **J Intern Med**. 2008 Apr;263(4):336-52. Epub 2008 Feb 27.

KAHALY, G.J.; DILLMANN, W.H. Thyroid hormone action in the heart. **Endocr Rev**. 2005 Aug;26(5):704-28. Epub 2005 Jan 4.

KIM, B.; CARVALHO-BIANCO, S.D.; LARSEN, P.R. Thyroid hormone and adrenergic signaling in the heart. **Arq Bras Endocrinol Metabol**. 2004 Feb;48(1):171-5.

KLEIN, I.; HONG, C. Effects of thyroid hormone on cardiac size and myosin content of the heterotopically transplanted rat heart. **J Clin Invest**. 1986 May;77(5):1694-8.

KORENMAN, S.G. The actions of thyroxine and tri-iodothyronine. **Calif Med**. 1970 Aug;113(2):45-50.

LANNI, A.; MORENO, M.; CIOFFI, M.; GOGLIA, F. Effect of 3,3'-diiodothyronine and 3,5-diiodothyronine on rat liver oxidative capacity. **Molecular and cellular endocrinology**. 1992 Aug;86(3):143-8.

LANNI, A.; MORENO, M.; LOMBARDI, A.; GOGLIA, F. Rapid stimulation in vitro of rat liver cytochrome oxidase activity by 3,5-diiodo-L-thyronine and by 3,3'-diiodo-L-thyronine. **Mol Cell Endocrinol**. 1994 Feb;99(1):89-94.

LANNI, A.; MORENO, M.; LOMBARDI, A.; GOGLIA, F. Calorigenic effect of diiodothyronines in the rat. **The Journal of physiology**. 1996 Aug 1;494 (Pt 3):831-7.

LANNI, A.; MORENO, M.; LOMBARDI, A.; GOGLIA, F. 3,5-Diiodo-L-thyronine and 3,5,3'-triiodo-L-thyronine both improve the cold tolerance of hypothyroid rats, but possibly via different mechanisms. **Pflügers Archiv : European journal of physiology**. 1998 Aug;436(3):407-14.

LANNI, A.; BENEDUCE, L.; LOMBARDI, A.; MORENO, M.; BOSS, O.; MUZZIN, P.; GIACOBINO, J.P.; GOGLIA, F. Expression of uncoupling protein-3 and mitochondrial activity in the transition from hypothyroid to hyperthyroid state in rat skeletal muscle. **FEBS Lett.** 1999 Feb 12;444(2-3):250-4.

LANNI, A.; MORENO, M.; LOMBARDI, A.; DE LANGE, P.; GOGLIA, F. Control of energy metabolism by iodothyronines. **Journal of endocrinological investigation.** 2001 Dec;24(11):897-913.

LANNI, A.; MORENO, M.; LOMBARDI, A.; DE LANGE, P.; SILVESTRI, E.; RAGNI, M.; FARINA, P.; BACCARI, G.C.; FALLAHI, P.; ANTONELLI, A.; GOGLIA, F. 3,5-diiodo-L-thyronine powerfully reduces adiposity in rats by increasing the burning of fats. **FASEB J.** 2005 Sep;19(11):1552-4. Epub 2005 Jul 12.

LARSEN, P.R.; DAVIES, T.F.; SCHLUMBERGER, M.J.; HAY, I.D. Thyroid physiology and diagnostic evaluation of patients with thyroid disorders. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, editors. **Williams' textbook of endocrinology.** 10th ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002.p.331-73. 4.

LARSON-MEYER, D.E.; HEILBRONN, L.K.; REDMAN, L.M.; NEWCOMER, B.R.; FRISARD, M.I.; ANTON, S.; SMITH, S.R.; ALFONSO, A.; RAVUSSIN, E. Effect of calorie restriction with or without exercise on insulin sensitivity, beta-cell function, fat cell size, and ectopic lipid in overweight subjects. **Diabetes Care.** 2006 Jun;29(6):1337-44.

LEBON, V.; DUFOUR, S.; PETERSEN, K.F.; REN, J.; JUCKER, B.M.; SLEZAK, L.A.; CLINE, G.W.; ROTHMAN, D.L.; SHULMAN, G.I. Effect of triiodothyronine on mitochondrial energy coupling in human skeletal muscle. **The Journal of clinical investigation.** 2001 Sep;108(5):733-7.

LÉGRÁDI, G.; EMERSON, C.H.; AHIMA, R.S.; FLIER, J.S.; LECHAN, R.M. Leptin prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. **Endocrinology.** 1997 Jun;138(6):2569-76.

LEIBEL, R.L.; ROSENBAUM, M.; HIRSCH, J. Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. **N Engl J Med.** 1995 Mar 9;332(10):621-8.

LEONARD, J.L.; VISSER, T.J. Biochemistry of deiodination. In: Hennemann, g. **Thyroid Hormone Metabolism**, 8^a ed, Dekker, New York, pp. 189-230, 1986.

LESENEY, A.M.; DÈME, D.; LEGUÉ, O.; OHAYON, R.; CHANSON, P.; SALES, J.P.; PIRES DE CARVALHO, D.; DUPUY, C.; VIRION, A. Biochemical characterization of a Ca²⁺/NAD(P)H-dependent H₂O₂ generator in human thyroid tissue. **Biochimie.** 1999 Apr;81(4):373-80.

LETIEXHE, M.R.; SCHEEN, A.J.; GÉRARD, P.L.; DESAIVE, C.; LEFÈBVRE, P.J. Insulin secretion, clearance and action before and after gastroplasty in severely obese subjects. **Int J Obes Relat Metab Disord**. 1994 May;18(5):295-300.

LI, B.; NOLTE, L.A.; JU, J.S.; HAN, D.H.; COLEMAN, T.; HOLLOSZY, J.O.; SEMENKOVICH, C.F. Skeletal muscle respiratory uncoupling prevents diet-induced obesity and insulin resistance in mice. **Nature Medicine**. 2000 Oct;6(10):1115-20.

LUSCOMBE, N.D.; CLIFTON, P.M.; NOAKES, M.; PARKER, B.; WITTERT, G. Effects of energy-restricted diets containing increased protein on weight loss, resting energy expenditure, and the thermic effect of feeding in type 2 diabetes. **Diabetes Care**. 2002 Apr;25(4):652-7.

LUZ, J.; GRIGGIO, M.A.; NATRIELI, R.M.; AUMOND, M.D. Energy balance of rats subjected to continuous and intermittent food restriction. **Braz J Med Biol Res**. 1995 Sep;28(9):1019-23.

MARINE, N.; HERSHMAN, J.M.; MAXWELL, M.H.; DORNFELD, L.P.; SCHROTH, P. Dietary restriction on serum thyroid hormone levels. **Am J Med Sci**. 1991 May;301(5):310-3.

MAVRI, A.; STEGNAR, M.; SENTOCNIK, J.T.; VIDEČNIK, V. Impact of weight reduction on early carotid atherosclerosis in obese premenopausal women. **Obes Res**. 2001 Sep;9(9):511-6.

MENTUCCIA, D.; PROIETTI-PANNUNZI, L.; TANNER, K.; BACCI, V.; POLLIN, T.I.; POEHLMAN, E.T.; SHULDINER, A.R.; CELIM, F.S. Association between a novel variant of the human type 2 deiodinase gene Thr92Ala and insulin resistance: evidence of interaction with the Trp64Arg variant of the beta-3-adrenergic receptor. **Diabetes**. 2002 Mar;51(3):880-3.

MORENO, M.; LANNI, A.; LOMBARDI, A.; GOGLIA, F. How the thyroid controls metabolism in the rat: different roles for triiodothyronine and diiodothyronines. **J Physiol**. 1997 Dec 1;505 (Pt 2):529-38.

MORENO, M.; LOMBARDI, A.; LOMBARDI, P.; GOGLIA, F.; LANNI, A. Effect of 3,5-diiodo-L-thyronine on thyroid stimulating hormone and growth hormone serum levels in hypothyroid rats. **Life sciences** 1998;62(26):2369-77.

MORENO, M.; LOMBARDI, A.; BENEDUCE, L.; SILVESTRI, E.; PINNA, G.; GOGLIA, F.; LANNI, A. Are the effects of T3 on resting metabolic rate in euthyroid rats entirely caused by T3 itself? **Endocrinology**. 2002 Feb;143(2):504-10.

MOZO, J.; EMRE, Y.; BOUILLAUD, F.; RICQUIER, D.; CRISCUOLO, F. Thermoregulation: what role for UCPs in mammals and birds? **Bioscience reports**. 2005 Jun-Aug;25(3-4):227-49.

MYLOTTE, K.M.; CODY, V.; DAVIS, P.J.; DAVIS, F.B.; BLAS, S.D.; SCHOENL, M. Milrinone and thyroid hormone stimulate myocardial membrane Ca²⁺-ATPase activity and share structural homologies. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 1985 Dec;82(23):7974-8.

NAKASHIMA, T.; TAUROG, A. Improved assay procedures for thyroid peroxidase; application to normal and adenomatous human thyroid tissue. **Clin Chim Acta**. 1978 Feb 1;83(1-2):129-40.

NUNES, M.T.; BIANCO, A.C.; MIGALA, A.; AGOSTINI, B.; HASSELBACH, W. Thyroxine induced transformation in sarcoplasmic reticulum of rabbit soleus and psoas muscles. **Z Naturforsch [C]**. 1985 Sep-Oct;40(9-10):726-34.

OJAMAA, K.; SABET, A.; KENESSEY, A.; SHENOY, R.; KLEIN, I. Regulation of rat cardiac Kv1.5 gene expression by thyroid hormone is rapid and chamber specific. **Endocrinology**. 1999 Jul;140(7):3170-6.

OLIVEIRA, J.H.; BARBOSA, E.R.; KASAMATSU, T.; ABUCHAM, J. Evidence for thyroid hormone as a positive regulator of serum thyrotropin bioactivity. **J Clin Endocrinol Metab**. 2007 Aug;92(8):3108-13. Epub 2007 May 15.

OPPENHEIMER, J.H.; SCHWARTZ, H.L.; LANE, J.T.; THOMPSON, M.P. Functional relationship of thyroid hormone-induced lipogenesis, lipolysis, and thermogenesis in the rat. **The Journal of clinical investigation**. 1991 Jan;87(1):125-32.

ORLOWSKI, J.; LINGREL, J.B. Thyroid and glucocorticoid hormones regulate the expression of multiple Na,K-ATPase genes in cultured neonatal rat cardiac myocytes. **J Biol Chem**. 1990 Feb 25;265(6):3462-70.

ORTIGA, T.M.R. Secreção in vitro de tireotrofina basal e pós-TRH de adenohipófises de ratos hipo e hipertireóides. Monografia apresentada no Instituto de Biologia (UERJ) para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas. 1992.

PASSADORE, M.D.; GRIGGIO, M.A.; NUNES, M.T.; LUZ, J. Effects of ageing on the energy balance of food-restricted rats. **Acta Physiol Scand**. 2004 Jun;181(2):193-8.

PECQUEUR, C.; CASSARD-DOULCIER, A.M.; RAIMBAULT, S.; MIROUX, B.; FLEURY, C.; GELLY, C.; BOUILLAUD, F.; RICQUIER, D. Functional organization of the human uncoupling protein-2 gene, and juxtaposition to the uncoupling protein-3 gene. **Biochem Biophys Res Commun**. 1999 Feb 5;255(1):40-6.

REIS, M.; FARAGE, M.; DE MEIS, L. Thermogenesis and energy expenditure: control of heat production by the Ca²⁺-ATPase of fast and slow muscle. **Molecular membrane biology**. 2002 Oct-Dec;19(4):301-10.

REDMAN, L.M.; HEILBRONN, L.K.; MARTIN, C.K.; ALFONSO, A.; SMITH, S.R.; RAVUSSIN, E.; PENNINGTON CALERIE TEAM. Effect of calorie restriction with or without exercise on body composition and fat distribution. **J Clin Endocrinol Metab.** 2007 Mar;92(3):865-72.

RICQUIER, D.; BOUILLAUD, F. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. **The Biochemical journal.** 2000 Jan 15;345 Pt 2:161-79
ROHRER, D.K.; HARTONG, R.; DILLMANN, W.H. Influence of thyroid hormone and retinoic acid on slow sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase and myosin heavy chain alpha gene expression in cardiac myocytes. Delineation of cis-active DNA elements that confer responsiveness to thyroid hormone but not to retinoic acid. **J Biol Chem.** 1991 May 5;266(13):8638-46.

ROSS, R.; DAGNONE, D.; JONES, P.J.; SMITH, H.; PADDAGS, A.; HUDSON, R.; JANSSEN, I. Reduction in obesity and related comorbid conditions after diet-induced weight loss or exercise-induced weight loss in men. A randomized, controlled trial. **Ann Intern Med.** 2000 Jul 18;133(2):92-103.

SALVATORE, D.; BARTHA, T.; HARNEY, J.W.; LARSEN, P.R. Molecular biological and biochemical characterization of the human type 2 selenodeiodinase. **Endocrinology.** 1996 Aug;137(8):3308-15.

SANTOS-PINTO, F.N.; LUZ, J.; GRIGGIO, M.A. Energy expenditure of rats subjected to long-term food restriction. **Int J Food Sci Nutr.** 2001 Mar;52(2):193-200.

SCHEIDEGGER, K.; O'CONNELL, M.; ROBBINS, D.C.; DANFORTH, E JR. Effects of chronic beta-receptor stimulation on sympathetic nervous system activity, energy expenditure, and thyroid hormones. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism.** 1984 May;58(5):895-903.

SERAPHIM, P.M.; NUNES, M.T.; MACHADO, U.F. GLUT4 protein expression in obese and lean 12-month-old rats: insights from different types of data analysis. **Braz J Med Biol Res.** 2001 Oct;34(10):1353-62.

SHIMIZU, Y.; SHIMAZU, T. Thyroid hormone augments GLUT4 expression and insulin-sensitive glucose transport system in differentiating rat brown adipocytes in culture. **J Vet Med Sci.** 2002 Aug;64(8):677-81.

SILVA, J.E. Full expression of uncoupling protein gene requires the concurrence of norepinephrine and triiodothyronine. **Mol Endocrinol.** 1988 Aug;2(8):706-13.

SILVA, J.E. Thyroid hormone control of thermogenesis and energy balance. **Thyroid.** 1995 Dec;5(6):481-92.

SILVA, J.E. Thyroid hormone and the energetic cost of keeping body temperature. **Bioscience reports.** 2005 Jun-Aug;25(3-4):129-48.

SILVESTRI, E.; SCHIAVO, L.; LOMBARDI, A.; GOGLIA, F. Thyroid hormones as molecular determinants of thermogenesis. *Acta physiologica Scandinavica*. 2005 Aug;184(4):265-83.

SIMONIDES, W.S.; BRENT, G.A.; THELEN, M.H.; VAN DER LINDEN, C.G.; LARSEN, P.R.; VAN HARDEVELD, C. Characterization of the promoter of the rat sarcoplasmic endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase 1 gene and analysis of thyroid hormone responsiveness. *The Journal of biological chemistry*. 1996 Dec 13;271(50):32048-56.

SIMONIDES, W.S.; THELEN, M.H.; VAN DER LINDEN, C.G.; MULLER, A.; VAN HARDEVELD, C. Mechanism of thyroid-hormone regulated expression of the SERCA genes in skeletal muscle: implications for thermogenesis. *Bioscience reports*. 2001 Apr;21(2):139-54.

STANBURY, J. B.; BROWNELL, G. L.; RIGGS, D. S.; PERINETTI, H.; ITOIZ, J.; DEL CASTILLO, E. B. The Adaptation of Man to Iodine Deficiency. 1954. Cambridge: **Harvard Univ. Press**. pp. 11-209.

TARASUK, V.; BEATON, G.H. The nature and individuality of within-subject variation in energy intake. *Am J Clin Nutr*. 1991 Sep;54(3):464-70.

TATA, J.R.; ERNSTER, L.; LINDBERG, O. Control of basal metabolic rate by thyroid hormones and cellular function. *Nature*. 1962 Mar 17;193:1058-60

VAISMAN, M.; ROSENTHAL, D.; CARVALHO, D.P. Enzymes involved in thyroid iodide organification. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2004 Feb;48(1):9-15. Epub 2004 Jun 1.

VAN GAAL, L.F.; VANSANT, G.A.; DE LEEUW, I.H. Factors determining energy expenditure during very-low-calorie diets. *Am J Clin Nutr*. 1992 Jul;56(1 Suppl):224S-229S.

VIDAL-PUIG, A.; SOLANES, G.; GRUJIC, D.; FLIER, J.S.; LOWELL, B.B. UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochemical and biophysical research communications*. 1997 Jun 9;235(1):79-82.

WEINSTEIN, S.P.; O'BOYLE, E.; HABER, R.S. Thyroid hormone increases basal and insulin-stimulated glucose transport in skeletal muscle. The role of GLUT4 glucose transporter expression. *Diabetes*. 1994 Oct;43(10):1185-9.

WEISS, E.P.; HOLLOSZY, J.O. Improvements in body composition, glucose tolerance, and insulin action induced by increasing energy expenditure or decreasing energy intake. *J Nutr*. 2007 Apr;137(4):1087-90.

WEISS, E.P.; RACETTE, S.B.; VILLAREAL, D.T.; FONTANA, L.; STEGER-MAY, K.; SCHECHTMAN, K.B.; KLEIN, S.; HOLLOSZY, J.O.; WASHINGTON UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE CALERIE GROUP. Improvements in glucose tolerance and insulin action induced by increasing energy expenditure or decreasing energy intake: a randomized controlled trial. **Am J Clin Nutr.** 2006 Nov;84(5):1033-42.

WETTER, T.J.; GAZDAG, A.C.; DEAN, D.J.; CARTEE, G.D. Effect of calorie restriction on in vivo glucose metabolism by individual tissues in rats. **Am J Physiol.** 1999 Apr;276(4 Pt 1):E728-38.

WILBORN, C.; BECKHAM, J.; CAMPBELL, B.; HARVEY, T.; GALBREATH, M.; LA BOUNTY, P.; NASSAR, E.; WISMANN, J.; KREIDER, R. Obesity: prevalence, theories, medical consequences, management, and research directions. **J Int Soc Sports Nutr.** 2005 Dec 9;2:4-31.

WILLIAMS, K.V.; MULLEN, M.L.; KELLEY, D.E.; WING, R.R. The effect of short periods of caloric restriction on weight loss and glycemic control in type 2 diabetes. **Diabetes Care.** 1998 Jan;21(1):2-8.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) - Global Database on Body Mass Index. Disponível em http://www.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html, acessado em maio de 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry. Tech. Rep. S

WU, P.S.; MORISCOT, A.S.; KNOWLTON, K.U.; HILAL-DANDAN, R.; HE, H.; DILLMANN, W.H. Alpha 1-adrenergic stimulation inhibits 3,5,3'-triiodothyronine-induced expression of the rat heart sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ adenosine triphosphatase gene. **Endocrinology.** 1997 Jan;138(1):114-20.

YEN, P.M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. **Physiol Rev.** 2001 Jul;81(3):1097-142.

ZARAIN-HERZBERG, A.; MARQUES, J.; SUKOVICH, D.; PERIASAMY, M. Thyroid hormone receptor modulates the expression of the rabbit cardiac sarco (endo) plasmic reticulum Ca(2+)-ATPase gene. **J Biol Chem.** 1994 Jan 14;269(2):1460-7.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Nossos resultados demonstram a capacidade da 3,5-diiodotironina em reduzir o ganho de peso ocorrido durante o envelhecimento na linhagem de ratos Wistar, e também evidenciam sua habilidade no controle do desenvolvimento da resistência insulínica. Entretanto, podemos observar fortes indícios da manifestação de efeitos indesejados, tais como, o aumento na relação do peso do coração e a supressão dos níveis séricos de T3 e T4.

A diminuição dos níveis plasmáticos de T3 e T4 sem alteração dos valores de TSH sugerem uma modulação direta do T2 sobre a liberação do TSH, como descrito por Host e cols. (1995), pois apesar dos níveis plasmáticos de T3 e T4 abaixo do normal os valores de TSH encontram-se normais. Além disto, estes dados também indicam uma possível diminuição na bioatividade do TSH, que desta forma apesar de suas concentrações estarem dentro da faixa de normalidade, o mesmo não foi capaz de estimular a síntese e liberação do T3 e T4, de forma a mantê-los dentro da faixa de normalidade.

Na literatura, os resultados existentes sobre a influência dos hormônios tireóideos na captação de glicose ainda são muitos controversos e pouco se sabe sobre os mecanismos pelos quais os HT possam estar afetando a ação direta da insulina ou em outras etapas do processo de captação de glicose. Não há nenhum dado na literatura que descreva a ação do T2 relacionada à captação de glicose.

Os dados presentes na literatura ainda são inconsistentes quantos aos efeitos do tratamento com T2, desta forma, a eficácia de sua utilização como uma abordagem terapêutica farmacológica efetiva para combater o ganho de peso, proposta por Lanni e cols. (2005), é questionada pelos nossos resultados.

Para elucidarmos os mecanismos pelos quais o T2 diminui os níveis séricos de T3 e T4, sem alterar a concentração de TSH, e ainda melhora a tolerância à glicose, precisamos avaliar a atividade das enzimas envolvidas no processo de síntese dos hormônios tireóideos e também a expressão das principais proteínas relacionadas

com a captação de iodo e glicose. Para isso, pretendemos futuramente avaliar em ratos tratados cronicamente com 3,5 T2:

- 1 Atividade da enzima TPO.
- 2 Função do co-transportador Na^+/I^- (NIS) *in vivo*, na glândula tireóide, por captação de I^{125} .
- 3 Expressão protéica do co-transportador sódio-iodeto (NIS).
- 4 Atividade da enzima DuOx.
- 5 Expressão de GLUT4 em tecido muscular e adiposo.
- 6 Expressão de IRS1 e IRS2 em tecido muscular, adiposo e hepático.
- 7 Resposta do TSH ao TRH *in vivo* e em hipófises isoladas.

http://www.ufrj.br/institutos/it/deng/varella/FTP/nbr_6023.ppt#13 Referencias

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)