

Adriana Cabanelas Pires

REGULAÇÃO DA SECREÇÃO DE LEPTINA E ADIPONECTINA E DA EXPRESSÃO
DE ADIPONECTINA POR HORMÔNIOS TIREOIDEANOS EM RATOS

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia),
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho,
Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte
dos requisitos necessários à obtenção do título de
Doutor em Ciências Biológicas (Fisiologia)

Orientador: Carmen Cabanelas Pazos de Moura

Rio de Janeiro

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

CABANELAS, Adriana

Regulação da secreção de leptina e adiponectina e da expressão de adiponectina por hormônios tireoideanos em ratos/ Adriana Cabanelas Pires. Rio de Janeiro, 2009.

XV, 153 p., il

Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, 2009.

1. Hormônios Tireoideanos. 2. Leptina. 3. Adiponectina 4. Tecido Adiposo. 5. Explantes. 6. Expressão de mRNA. – Tese. I. Pazos-Moura, Carmen Cabanelas (Orient.). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho. III. Título.

Adriana Cabanelas Pires

REGULAÇÃO DA SECREÇÃO DE LEPTINA E ADIPONECTINA E DA EXPRESSÃO
DE ADIPONECTINA POR HORMÔNIOS TIREOIDEANOS EM RATOS

Rio de Janeiro, 04 de Março de 2009.

(Prof. Carmen Cabanelas Pazos de Moura, IBCCF, UFRJ)

(Prof. Vânia Maria Corrêa da Costa, IBCCF, UFRJ)

(Prof. Doris Rosenthal, IBCCF, UFRJ)

(Prof. Valeria de Mello Coelho, ICB, UFRJ)

(Prof. Patrícia Cristina Lisboa da Silva, DCF-IBRAG, UERJ)

À todos aqueles que acreditaram que
seria possível.

Agradecimentos

À memória do meu pai, Ivo José Pires, que não terá a oportunidade de viver esse momento.

À minha mãe, Concepcion Cabanelas Justo, e à minha avó, Concepcion Justo Cendon de Cabanelas, por todo apoio, incentivo e carinho, mesmo que de maneira um tanto diferente. À minha irmã, Alice Cabanelas Pires, pela amizade e por toda ajuda.

À minha orientadora, Carmen Cabanelas Pazos de Moura, pelo incentivo, paciência, competência e dedicação com que você me orientou todos esses anos. Muito obrigada!

Ao meu namorado, Bruno Macedo Fernandes, pelo amor e carinho. Obrigada por tolerar as minhas ausências físicas e mentais e se dedicar com afinco em me ajudar em todo o possível, trabalhando noite adentro para que tudo ficasse pronto. Sem a sua ajuda, arrumando um computador no fim do mundo, circulando bolinhas, desenhando e pintando as figuras mais lindas, formatando referências, me levando para passear quando eu queria mesmo era quebrar tudo, me abraçando quando o mundo parecia desabar, enfim, essa tese nunca teria ficado pronta. Amo muito você.

Aos queridos amigos do LEM, os alunos Aline Cordeiro de Faria Fernandes, Ana Claudia de Lima Silva, Camila Calvino Moraes, Debora Cristina de Moraes, Érika dos Santos Lima, Flavia Fonseca Bloise, Gabriela Silva Monteiro de Paula, Larissa Costa Faustino, Letícia Aragão Santiago, Luana Lopes de Souza, Marcia Helena Soares Costa, Marcio de Oliveira Nunes, Mariana Martins da Costa, Monique Nunes Carvalhaes Pinheiro, Norma Aparecida dos Santos, Raquel Maranduba Pires, Ricardo Henrique da Costa Souza, Rodrigo da Silva Fraga de Souza, a professora Tania Maria Ortiga Carvalho, e a eterna membro oficial do LEM Karen de Jesus Oliveira. Obrigada não apenas pela ajuda técnica e pelo trabalho em equipe, mas principalmente pelo companheirismo, festas, chopes e risadas. Vocês conseguem tornar o ato de ir ao Fundão todos os dias simplesmente maravilhoso.

Aos meus amigos-terapeutas Sergio Sclebin e Henrique Oliveira. Impressiona o fato de mesmo sem se conhecerem, dizerem as mesmas coisas. Seus conselhos e ajudas foram sempre muito importantes, apesar desta teimosa nunca colocar nada em prática. Aos amigos do Alegria e Arte, por ouvirem as minhas queixas-piadas performáticas e sempre me incentivarem a seguir em frente e acreditar mais em mim.

Aos amigos do Instituto Shin Kage Ryu, pela amizade e pela filosofia que inspiram, mesmo na minha ausência.

À todos aqueles que, mesmo não citados, me acompanharam nessa jornada.

“O sucesso nasce do querer, da
determinação e persistência em se chegar
a um objetivo. Mesmo não atingindo o
alvo, quem busca e vence obstáculos, no
mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

CABANELAS, Adriana. Regulação da secreção de leptina e adiponectina e da expressão de adiponectina por hormônios tireoideanos em ratos. Rio de Janeiro, 2009. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009

Triiodotironina (T3), leptina e adiponectina possuem ações comuns na regulação do metabolismo energético. Avaliamos se os hormônios tireoideanos poderiam regular a secreção de leptina e adiponectina e a expressão de mRNA de adiponectina.

Adiponectina e leptina foram quantificadas em soro e em meio de incubação de explantes contendo 50mg de tecido adiposo branco inguinal e epididimal de ratos eu-, hipo- ou hipertireoideos incubados em soro livre de iodotironinas por diferentes tempos na presença ou ausência de T3 e outros reguladores. Nos mesmos tecidos, avaliamos o RNA mensageiro de adiponectina, por PCR em tempo real, e a histologia por coloração de hematoxilina-eosina.

O T3 não foi capaz de alterar a expressão e secreção de adiponectina nos explantes provenientes de ratos normais, enquanto que diminuiu a secreção de leptina nos explantes de tecido adiposo branco epididimal incubados por 48h com T3. A rosiglitazona diminuiu a secreção de adiponectina e aumentou a expressão do seu mRNA no tecido adiposo inguinal, assim como diminui a secreção de leptina em 48h. A dexametasona aumenta a secreção de leptina em ambos os tecidos e adiponectina apenas no tecido epididimal. O hipo- e hipertireoidismo levaram a diminuição do ganho de peso, 97 e 41%, respectivamente, e somente os animais hipertireoideos apresentaram diminuição da massa de tecido adiposo. Os adipócitos tiveram redução de área e perímetro nos animais hipotireoideos e hipertireoideos. Adiponectina sérica apresentou-se aumentada no hipotireoidismo e inalterada nos hipertireoidismo. A leptina sérica reduziu no animal hipertireoideo e não se alterou no animal hipotireoideo. A expressão de mRNA de adiponectina diminuiu no tecido epididimal dos animais hipertireoideos. Os explantes dos tecidos adiposos provenientes dos ratos hipotireoideos apresentaram aumento da secreção de adiponectina sem alteração do seu mRNA. Explantes de ratos hipertireoideos apresentaram redução da secreção de adiponectina somente no tecido inguinal, com concomitante aumento do mRNA. Os explantes de ambos os tecidos dos ratos hipertireoideos secretaram menos leptina, já o dos animais hipotireoideos foi menor apenas no tecido inguinal.

O T3 não parece ser um regulador direto no tecido adiposo branco da secreção de adiponectina e da expressão de seu mRNA. As alterações de secreção e expressão gênica de adiponectina obtidas com as disfunções tireoideanas devem ser decorrentes de efeitos extra-tecido adiposo. O hormônio tireoideano é um regulador direto da secreção de leptina nos adipócito, o que sugere que as alterações no hipo- e hipertireoidismo decorrentes em parte deste efeito.

ABSTRACT

CABANELAS, Adriana. Regulação da secreção de leptina e adiponectina e da expressão de adiponectina por hormônios tireoideanos em ratos. Rio de Janeiro, 2009. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009

Triiodothyronin (T3), leptin and adiponectin possess common actions in the regulation of energy metabolism. We evaluate if the thyroid hormones could regulate the secretion of leptin and adiponectin and mRNA expression of adiponectin.

Adiponectin and leptin were quantified in serum and in incubation medium of 50mg explants of inguinal and epididimal fat pads of eu-, hypo- or hyperthyroid rats cultured with iodothyronin-free serum for different times in the presence or absence of T3 and other regulators. In the same tissues, we evaluate the mRNA of adiponectin, with real time PCR, and histology with hematoxilin-eosine dye.

T3 was not able to modify the expression and secretion of adiponectin in explants of normal rats, whereas diminished the secretion of leptin in explants of white epididimal adipose tissue cultured by 48h with T3. Rosiglitazone diminished adiponectin secretion and increased its mRNA expression in inguinal adipose tissue, and decreased leptin secretion in 48h. Dexametasone increased leptin secretion in both tissues and adiponectin secretion only in epididimal tissue. Hypo- and hyperthyroidism reduced the weight profit, 97 and 41%, respectively, and only the hyperthyroid animals presented reduction of the adipose tissue mass. A reduction of area and perimeter of adipocytes was seen in the hypothyroid and hyperthyroid animals. Serum Adiponectin was increased in the hypothyroidism and unchanged in the hyperthyroidism. Serum leptin reduced in the hyperthyroid animals and did not change in the hypothyroid animals. The expression of mRNA of adiponectin diminished in the epididimal tissue of the hyperthyroid animals. The adipose tissue explants from the hypothyroids rats presented increase of the secretion of adiponectin without altering its mRNA. Explants of hyperthyroid rats only presented reduction of the secretion of adiponectin in inguinal tissue, with concomitant increase of mRNA. The explants of both the tissues of the hyperthyroid rats released less leptin, but in the hypothyroid animals it was less only in the inguinal tissue.

T3 does not seem to be a direct regulator of the secretion of adiponectin and the expression of its mRNA in the white adipose tissue. The secretion and mRNA expression alterations of adiponectin with the thyroid dysfunctions must be caused by extra-adipose tissue effect. The thyroid hormone is a direct regulator of the secretion of leptin in the adipocytes, wich suggest that the alterations in hypo- and hyperthyroidism occurring are in part of this effect.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1:	20
Figura 2:	22
Figura 3:	23
Figura 4:	25
Figura 5:	26
Figura 6:	27
Figura 7:	29
Figura 8:	31
Figura 9:	44
Figura 10:	45
Figura 11:	54
Figura 12:	54
Figura 13:	55
Figura 14:	61
Figura 15:	62
Figura 16:	64
Figura 17:	66
Figura 18:	88
Figura 19:	88
Figura 20:	1
Figura 21:	92
Figura 22:	93
Figura 23:	94
Figura 24:	95
Figura 25:	96
Figura 26:	98
Figura 27:	99
Figura 28:	100

Figura 29:	101
Figura 30:	102
Figura 31:	104
Figura 32:	104
Figura 33:	105
Figura 34:	106
Figura 35:	107
Figura 36:	109
Figura 37:	109
Figura 38:	110
Figura 39:	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	103
-----------------	-----

LISTA DE ABREVIATÓES

AdipoR – Receptor de adiponectina

AGRP – Peptídeo relacionado à proteína agouti

AMPK – Proteína cinase ativada por monofosfato de adenosina

Animais db/db – Animais que possuem uma mutação no receptor de leptina

Animais ob/ob – Animais que possuem uma mutação no gene da leptina

APN - adiponectina

APPL – Proteína adaptadora contendo domínio de homologia com pleckstrina, domínio de ligação com fosfotirosina e motivo de zipper de leucina

ATP – Trifosfato de adenosina

cAMP – Monofosfato de adenosina cíclico

D1 – Iodotironina desiodase tipo 1

D2 – Iodotironina desiodase tipo 2

D3 – Iodotironina desiodase tipo 3

DIT - Diiodotirosina

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DRIP/TRAP – Proteína de interação com receptor de vitamina D/ proteína associada com receptor de hormônio tireoideano

GLUT – Transportador de glicose

HAT - Transportadores de aminoácidos

HDAC – Histonas desacetilases

HDL – Lipoproteínas de alta densidade.

HMW – Adiponectina de peso molecular alto

HTs - Hormônios tireoideanos

IMC - Índice de massa corporal

IRS – Substrato do receptor de insulina

JAK – Janus cinase

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LMW – Adiponectina de peso molecular baixo ou trímero

MAPK – Proteinocinase ativada por mitógenos

MCT - Translocases de ácidos graxos e transportadores de monocarboxilatos

MDR - Bombas de resistência multidrogas

MIT – Monoiodotirosina

MMW – Adiponectina de peso molecular médio ou hexâmero

NCoR – Co-repressor de receptor nuclear

NPY – Neuropeptídeo Y

NTCP - Peptídeos co-transportadores de Na⁺/taurocolato

OATPs - Família dos polipeptídeos transportadores de anions orgânicos

Ob-R – Receptor de leptina

PI3K - Fosfatidil inositol 3 cinase

POMC – Precursor de hormônio estimulador de melanócitos

PPAR – Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma

rT3 – 3,3',5'-triiodotironina reverso

RXR – Receptor de ácido retinóico

SMRT – Mediador silenciador para receptor de ácido retinóico e receptor de hormônio tireoideano

SRC – Co-ativador de receptor

STAT – Transdutores de sinal e ativadores de transcrição

T2 - Diiodotironina

T3 – 3,3',5'-Triiodotironina

T4 – Tiroxina

TAB – Tecido adiposo branco

TAM – Tecido adiposo marrom

TBG - Globulina ligadora de T4

TG – Tireoglobulina

TMB – Taxa metabólica basal

TNF- α – Fator α de necrose tumoral

TR – Receptor de hormônio tireoideano

TRE – Elemento responsivo a hormônio tireoideano

TRH – Hormônio liberador de tireotrofina

TSH – Hormônio estimulador da tireóide ou tireotrofina

TSHR – Receptores de TSH

TTR - Transtiretina

TZD –Tiazolidinedionas

UCP – Proteína desacopladora

α -MHC - α -melanocortina

α V β 3 – Integrina de membrana α V β 3

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. FUNÇÃO TIREOIDEANA.....	17
1.1.1. Hormônios Tireoideanos	17
1.1.1.1. Regulação da Secreção e Síntese	18
1.1.1.2. Mecanismo de ação.....	23
1.1.1.3. Efeitos	32
1.2. HORMÔNIOS DO TECIDO ADIPOSEO	38
1.2.1. Leptina	40
1.2.1.1. Síntese e regulação	41
1.2.1.2. Mecanismos de ação	44
1.2.1.3. Efeitos	47
1.2.2. Adiponectina	51
1.2.2.1. Síntese e regulação	51
1.2.2.2. Mecanismo de ação	60
1.2.2.3. Efeitos	63
1.3. INTERAÇÕES ENTRE HORMÔNIOS TIREOIDEANOS E LEPTINA E ADIPONECTINA	69
2. OBJETIVOS	76
2.1. GERAL	76
2.2. ESPECÍFICOS	76
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	78
3.1. DESENHO EXPERIMENTAL I	78
3.2. DESENHO EXPERIMENTAL II	78
3.2.1. Tratamento dos animais.....	78
3.2.2. Procedimentos experimentais	79
3.3. EXPLANTES DE TECIDO ADIPOSEO	80
3.4. HISTOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO	80
3.5. MORFOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO	81
3.6. DOSAGENS HORMONAIS.....	82
3.6.1. Radioimunoensaio (RIE) de Adiponectina	82
3.6.2. RIE de Leptina	82
3.6.3. RIE de TSH	83
3.6.4. RIE de T3 e T4 total	84
3.7. QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO DE mRNA DE ADIPONECTINA	84
3.7.1. Extração de RNA	84
3.7.2. Transcrição Reversa	85
3.7.3. PCR em Tempo Real (Real-Time PCR)	86

3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	89
4. RESULTADOS	91
5. DISCUSSÃO	112
6. CONCLUSÕES	123
7. REFERÊNCIAS	124

1. INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoideanos (HTs) são importantes no crescimento e na diferenciação celular, na regulação do metabolismo energético e no funcionamento adequado de todos os tecidos do organismo. A produção dos hormônios tireoideanos tiroxina (T4) e triiodotironina (T3) é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, enquanto que a atividade biológica hormonal é influenciada por enzimas ativadoras/inativadoras e por proteínas transportadoras¹.

No tecido adiposo ocorrem síntese e secreção de adipocitocinas, proteínas envolvidas na regulação de diversos processos biológicos relacionados à homeostase metabólica. Dentre tais hormônios, de relevante importância, estão a adiponectina e a leptina².

A concentração sérica de leptina tem correlação com o índice de massa corporal (IMC) e com a massa total de gordura do organismo³, estando relacionada com o estado das reservas de energia do corpo: na alimentação excessiva e na obesidade, encontra-se aumentada⁴, enquanto que no indivíduo em dieta hipocalórica crônica, encontra-se diminuída⁵. A leptina atua principalmente no sistema nervoso central, exercendo efeito anorexígeno e estimulante do gasto energético⁶.

A adiponectina está envolvida com mecanismos homeostáticos que regulam peso corporal e metabolismo energético. Ela apresenta importantes efeitos metabólicos, tais como estimulação da oxidação de ácidos graxos,

redução da gliconeogênese e aumento da termogênese^{7,8,9,10}. A partir de estudos epidemiológicos e experimentais, observou-se que a deficiência de adiponectina está relacionada à obesidade e à resistência à insulina^{9,11,12}. Além disso, a administração de adiponectina em determinados modelos de camundongos ocasionou diminuição do peso corporal, redução da glicemia e diminuição da resistência à insulina^{13,14,15}.

O hormônio tireoideano tem efeitos metabólicos importantes e está associado quando em excesso, à perda de peso^{16,17}. Efeitos sobre o tecido adiposo têm sido relatados, modulando a proliferação e diferenciação do adipócito, alterando a resposta lipolítica e a sensibilidade do tecido a outros hormônios^{18,19,20}.

1.1. FUNÇÃO TIREOIDEANA

1.1.1. Hormônios Tireoideanos

As células, denominadas tireócitos, da glândula tireóide sintetizam, armazenam e liberam os hormônios tireoideanos, que são derivados iodados do aminoácido tirosina: o T4 e o T3, contendo quatro e três átomos de iodo, respectivamente²¹.

O T4 e o T3 são hormônios vitais para o crescimento e desenvolvimento normais dos vertebrados, sendo responsáveis por controlar diversos processos biológicos relacionados ao metabolismo e diferenciação celular. Isso fica mais evidente em anfíbios, pois a metamorfose não ocorre em larvas

tireoidectomizadas, a não ser que seja administrado HT exógeno²². Em mamíferos, é evidente a importância dos HTs no desenvolvimento do sistema nervoso central, onde a sua deficiência pode levar à anormalidades morfológicas e funcionais²³. A produção desses hormônios na tireóide é dependente da secreção normal e adequada dos hormônios do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide²⁴.

1.1.1.1. Regulação da Secreção e Síntese

O hipotálamo representa uma interface entre o sistema nervoso e o endócrino. Junto com a hipófise, exerce controle sobre várias glândulas endócrinas, regulando diversos processos fisiológicos. Os neurônios hipotalâmicos dos núcleos paraventriculares produzem o hormônio liberador de tireotrofina (TRH), um tripeptídeo cuja principal função é estimular a síntese e secreção do hormônio estimulador da tireóide (TSH) nos tireotrofos da adenohipófise²⁵. A ligação do TRH ao receptor, que pertence à família de receptores acoplados a proteína G, resulta em ativação de fosfolipase C, aumentando a concentração intracelular de cálcio e estimulando a secreção de TSH²⁶. A ligação do TRH ao receptor também aumenta a transcrição dos genes que codificam as cadeias α e β do TSH, pela fosforilação, mediada por uma fosfocinase C, de elementos protéicos que atuam sobre a transcrição gênica²⁷; os mRNAs para estas subunidades já estão elevados 30 minutos após administração *in vivo* do TRH²⁸. Em ratos, a concentração sérica de TSH alcança um pico após 15 minutos de aplicação intravenosa de TRH²⁹. A meia

vida plasmática do TRH é curta, sendo rapidamente degradado no sangue e nos tecidos por ação da enzima piroglutamil aminopeptidase. Na adenohipófise, esta enzima é estimulada por T3^{30,31}.

O TSH, também denominado tireotrofina, é o principal responsável pela função, morfologia e crescimento da tireóide, estimulando todas as etapas da síntese e liberação dos HTs³². Com a remoção da hipófise ocorre atrofia e hipovascularização da tireóide, com queda da produção dos HTs, mostrando a importância do TSH para a célula tireoideana³³. O TSH é uma glicoproteína de cerca de 29kDa composta por duas subunidades: alfa e beta. A subunidade alfa deste hormônio apresenta a mesma seqüência de aminoácidos da subunidade alfa das gonadotrofinas, enquanto a subunidade beta do TSH é estruturalmente singular, sendo responsável por sua especificidade biológica e imunológica^{26,34}. O TSH é processado no Reticulo Endoplasmático e no Golgi, onde é glicosilado. A glicosilação confere atividade biológica, tornando essa etapa importante para a ação hormonal³⁴. A sua secreção é pulsátil, com ciclo circadiano com secreção maior à noite em seres humanos³⁴. O TSH atua no tireócito através de ligações com receptores denominados receptores de TSH (TSHR) localizados na membrana plasmática, estimulando a expressão de proteínas envolvidas na síntese de T3 e T4, aumentando a atividade da célula tireoideana e estimulando a secreção hormonal³⁴. O TSHR é um receptor acoplado a proteína Gs, que ativa adenilil-ciclase, aumentando a concentração de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) e ativando cinase protéica A, fosforilando proteínas envolvidas na síntese de HTs. Também participam em parte do efeito do TSH receptores acoplados a proteína Gq, que ativam fosfatidil-inositol e cinase protéica C, que atuam na proliferação da tireóide³⁴.

A retroalimentação negativa dos hormônios tireoideanos é a principal regulação da liberação de TSH. Os HTs podem atuar no hipotálamo, bloqueando a produção de TRH³⁵, mas sua ação direta no tireotrofo parece ser o mecanismo predominante pelos quais os HTs atuam na determinação do TSH sérico³⁶, apesar de estudos recentes questionaram esta hipótese³⁷. O TSH tem a transcrição da subunidade β rapidamente suprimida por T3 ligado ao seu receptor nuclear. Outros fatores, além dos HTs, atuam como moduladores. Estes são oriundos do sistema nervoso central, da circulação sanguínea ou agem como fatores autócrinos/parácrinos^{35,38,39,40,41}.

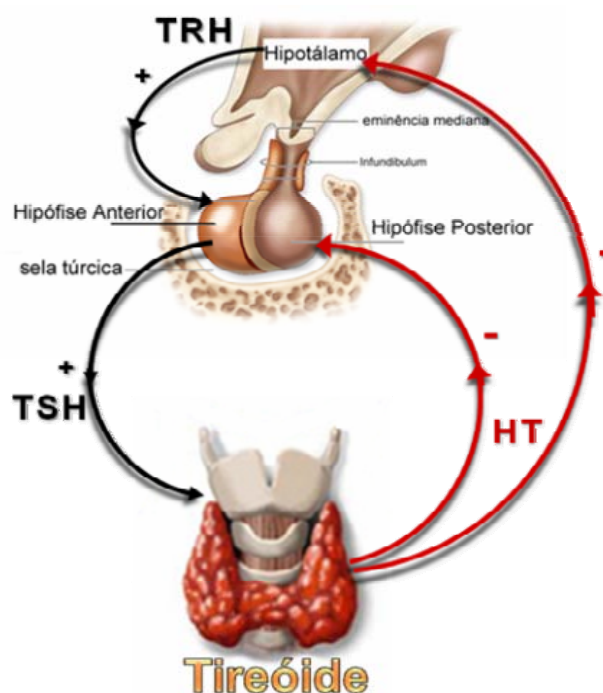


Figura 1: Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireóideo: O hipotálamo produz o hormônio liberador de tireotrofina (TRH), que estimula a adeno-hipófise a secretar o hormônio estimulador da tireóide (TSH). Este age sobre a tireóide aumentando a síntese e liberação dos hormônios tireoideanos (HTs), que regulam a sua própria síntese inibindo a secreção de TRH e TSH.

A ingestão adequada de iodo é um pré-requisito para a síntese normal de HT. Atualmente, as principais fontes alimentares deste elemento são frutos do mar e o sal iodado³³. As células foliculares da tireóide captam o iodeto junto com o sódio através de uma proteína transportadora presente na membrana, o co-transportador de Na^+/I^- ⁴² e o concentram no seu interior e no colóide. O iodeto é carregado em direção à membrana apical, onde se liga a um co-transportador iodeto/cloreto chamado pendrina⁴³ e é rapidamente oxidado e organificado na molécula de tireoglobulina (TG). Formam-se os radicais mono e diiodotirosina (MIT e DIT, respectivamente), que se acoplam dando origem aos HTs. Estas reações são catalisadas pela tireoperoxidase, uma hemoglicoproteína com peso molecular de 103 kDa, situada principalmente nas microvilosidades da membrana apical da célula folicular. Esta enzima requer H_2O_2 como cofator, sintetizado pela enzima NADPH-oxidase⁴⁴. A TG é armazenada no colóide. Para que ocorra a secreção hormonal, a TG sofre um processo de endocitose, seguida de proteólise, liberando os HTs. Pode ainda ocorrer reutilização do iodo pela desiodação de MIT e DIT, assim como a desiodação intratireoideana de T4 a T3 pelas enzimas iodotironina desiodase tipo 1 (D1) e 2 (D2). Os HTs então ultrapassam a membrana do endossoma-lisossoma e a membrana plasmática basolateral da tireóide e alcançam a circulação sanguínea^{33,45} (Figura 2).

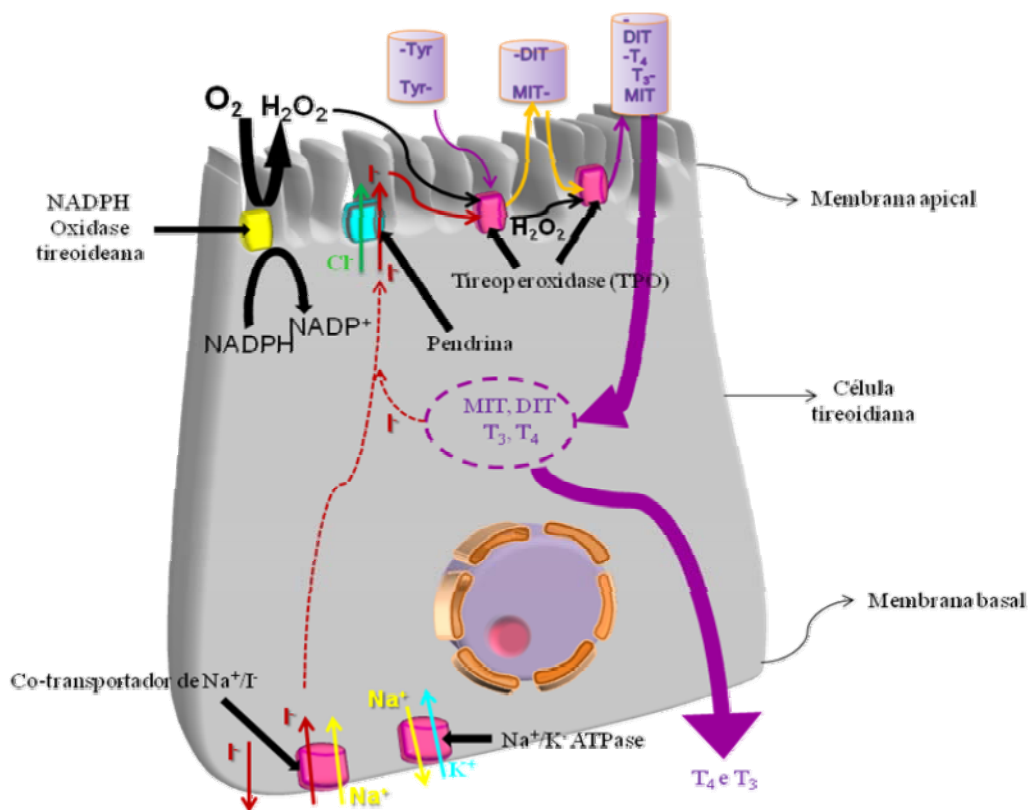


Figura 2: Biossíntese dos hormônios tireoideanos

Na circulação periférica, a maior parte dos HTs é transportada associada a proteínas plasmáticas. Em seres humanos, cerca de 80% do T_4 está ligado à globulina ligadora de T_4 (TBG), 15% à pré-albumina ligadora de T_4 , conhecida também como transtiretina (TTR) e 5% são carreados pela albumina²¹. Já o T_3 plasmático encontra-se distribuído de forma um pouco diferente: 38% ligado a TBG, 27% a TTR e aproximadamente 35% a albumina^{21,33}. Em ratos, a TTR é a principal carreadora de HT, sendo responsável por 55% do transporte de T_4 ; já a TBG garante o transporte de 18% e a albumina de 15%⁴⁶.

1.1.1.2. Mecanismo de ação

Por um longo tempo se acreditou que, devido a sua lipofilicidade, os HTs entrariam na célula por difusão. Entretanto, foram descritos transportadores de hormônios tireoideanos que se localizam na membrana plasmática e regulam a entrada de HTs na célula⁴⁷ (Figura 3). Hoje se admite que membros da família dos polipeptídeos transportadores de ânions orgânicos (OATPs), transportadores de aminoácidos (LAT), peptídeos co-transportadores de Na^+ /taurocolato (NTCP), bombas de resistência multidrogas (MDR), translocases de ácidos graxos e transportadores de monocarboxilatos (MCT) estão envolvidos na entrada de HTs para o interior da célula⁴⁷.

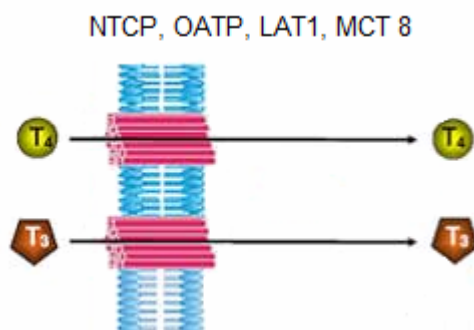


Figura 3: Transportadores de hormônios tireoideanos (T3 e T4) conhecidos. Abreviaturas: NTCP, peptídeos co-transportadores de Na^+ /taurocolato; OATP, família dos polipeptídeos transportadores de ânions orgânicos; LAT, transportadores de aminoácidos; MCT, translocases de ácidos graxos e transportadores de monocarboxilatos. Retirado e modificado de www.hotthyroidology.com

O OATP1A2 é expresso em células endoteliais da barreira hematoencefálica onde se acredita atuar no transporte de HT para o cérebro⁴⁸. Já a família OATP1C contém transportadores de HTs de alta afinidade que

parecem importantes para o metabolismo dos HTs. OATP1C1 é expresso em capilares da barreira hematoencefálica e é regulado positivamente tanto na expressão de mRNA quanto na de proteína em ratos hipotireoideos e negativamente em ratos hipertireoideos⁴⁹. MCT8 é um transportador específico de HTs⁵⁰. Mutações de MCT8 em humanos causam retardo mental grave e T3 elevado⁵¹, mostrando que essa proteína é importante para a regulação da ação de HTs no cérebro. Em outros tecidos, seu efeito precisa ser investigado.

A tireóide produz predominantemente T4 e a desiodação do T4 dá origem a pelo menos 80% do T3 em seres humanos e 55% no rato^{33,52}. Como o T3 - e não o T4 - é o hormônio que predominantemente se liga ao receptor, a desiodação extra-tireoideana do anel externo pode ser vista como o primeiro passo para a ativação do pró-hormônio T4 (Figura 4). Duas diferentes enzimas catalisam a conversão de T4 para T3, D1 e D2⁵³. Elas realizam desiodação do anel fenólico ou externo na posição 3' ou 5' (equivalentes pela rotação livre do anel). A D1 e a iodotironina desiodase do tipo 3 (D3)⁵³, desiodam o T4 e T3 a T3 reverso (rT3) e 3,3' - diiodotironina (T2), respectivamente, pela desiodação do anel tirosílico ou interno na posição 3 ou 5. A D2 é uma proteína chave no controle da concentração intracelular de T3. Ela é uma proteína transmembrana localizada no retículo endoplasmático⁵³, enquanto que a D1 e a D3 se localizam na membrana plasmática⁵³. A D3 é a principal enzima inativadora de T4 e T3, uma vez que a D1, em condições fisiológicas, tem uma capacidade pequena de retirar o iodo do anel interno⁵⁴, a não ser que os HTs estejam sulfatados⁵⁴. A D3 contribui para a homeostase protegendo os tecidos do excesso de hormônio tireoideano.

rT3 e T2 são metabólitos com atividade biológica restrita e menos conhecida, apesar de estar cada vez mais claro pelos trabalhos recentes que não são hormônios inativos como se acreditava⁵⁵.

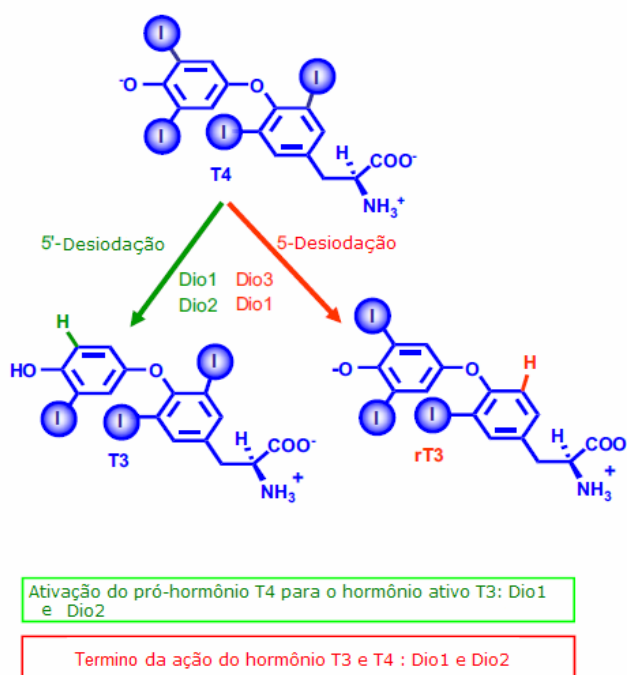


Figura 4: Desiodação do T4 pelas desiodases. A ativação do pró-hormônio T4 ao hormônio ativo T3 é catalisada pelas enzimas D1 e D2 (em verde). A inativação a rT3 é catalisada pelas enzimas D3 e D1 (em vermelho). Retirado e modificado de Köhre⁵⁶.

A maior parte dos efeitos dos hormônios tireoideanos é exercida através de receptores nucleares, fatores transcripcionais regulados por ligantes que aderem à cromatina⁵⁷. Os receptores de hormônios tireoideanos (TR) são proteínas pertencentes à superfamília de receptores hormonais nucleares, originados a partir dos genes do TR α (THRA) e do TR β (THRB)^{58,59}, que apresentam sítio de ligação ao hormônio e sítios de interações com outras proteínas situados na extremidade C-terminal, e domínio de ligação ao DNA

localizado centralmente na proteína receptora⁶⁰. Estes receptores nucleares agem em genes específicos através de seqüências nucleotídicas denominadas elementos responsivos ao hormônio tireoideano (TRE) situados na região promotora do gene-alvo⁶¹ (Figura 5). Os receptores de hormônio tireoideano ligam-se ao TRE na forma de heterodímeros em associação com o receptor de ácido retinóico (RXR)^{60,61,62}. Um grande número de proteínas adicionais participa na ação dos TR, modulando a expressão gênica através do estímulo (denominadas co-ativadores) ou da repressão (denominadas co-repressores) da atividade transcripcional de diferentes genes, ainda que no mesmo tecido⁶³.

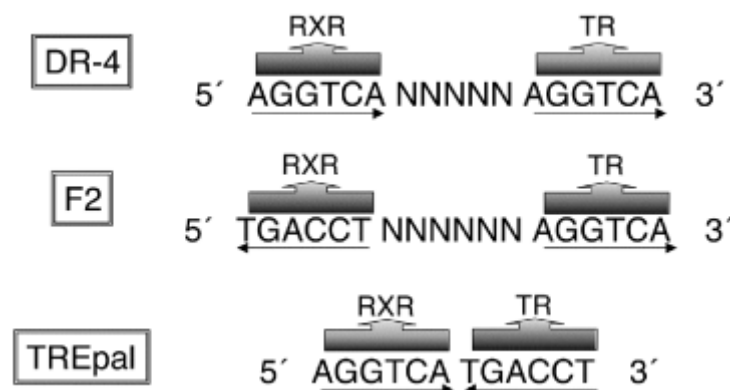


Figura 5: Elementos responsivos ao hormônio tireoideano. Repetições diretas (DR-4), palíndromo invertido (F2) e palíndromo (TREpal). N são nucleotídeos entre os hexâmeros. Retirado de Barra e colaboradores⁶⁴.

O gene do TR α origina as isoformas TR α 1 e c-erbA α 2 (TR α 2), que diferem quanto à extremidade carboxi-terminal^{58,59,65}. Estudos indicam que o c-erbA α 2 – que não liga T3 – exerce efeitos antagônicos em relação à ação do hormônio tireoideano^{59,65}. Além desses produtos, o gene do TR α também codifica as proteínas truncadas TR $\Delta\alpha$ 1 e TR $\Delta\alpha$ 2, que parecem ser receptores

citoplasmáticos de T4 e rT3⁶⁶. Outra característica peculiar do gene do TR α é utilizar a fita oposta para transcrever outro produto gênico, rev-erbA, que possui um mRNA complementar a c-erbA α 2⁶⁷ e codifica uma proteína que é um receptor nuclear expresso no músculo e nos adipócitos⁶⁸. Já o gene do TR β origina as isoformas TR β 1, TR β 2 e TR β 3, que diferem quanto à extremidade amino-terminal^{58,69,70}. Várias formas curtas de TR α e TR β são expressas em células-tronco embrionárias^{58,71}.

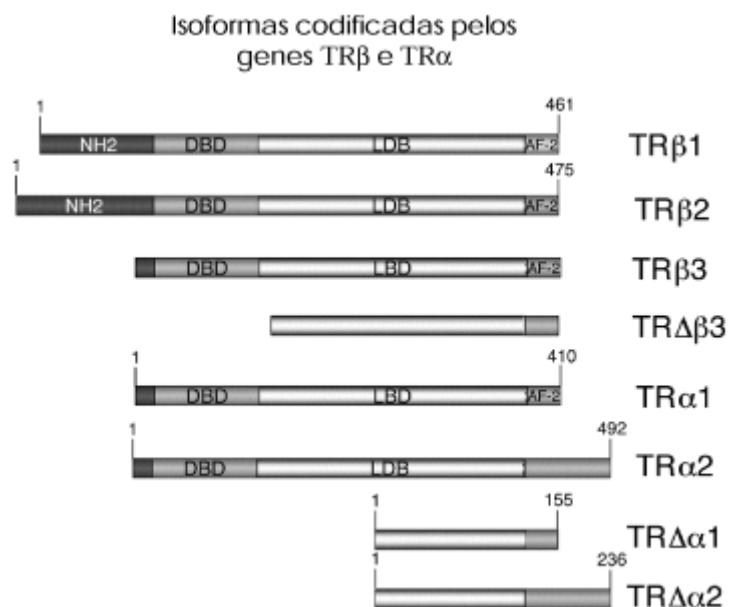


Figura 6: Estrutura primária das diferentes isoformas codificadas pelos genes dos receptores dos hormônios tireoideanos. Retirado de Barra e colaboradores⁶⁴.

A ligação de alta afinidade do T3 ao receptor pode induzir ou suprimir a expressão de genes-alvos⁶⁰. Além disso, já foi demonstrado que esses receptores podem regular a expressão gênica independentemente da presença de ligante^{72,73,74}. Nos genes-alvos regulados positivamente, a ausência do ligante favorece o recrutamento de co-repressores⁷⁵, enquanto que na

presença de T3 ocorre liberação de co-repressores e recrutamento de complexos co-ativadores, levando à ativação da transcrição gênica^{62,76} (Figura 7).

Os dois principais co-repressores identificados são o co-repressor de receptor nuclear (NCoR – do inglês *nuclear receptor co-repressor*) e o silenciador para receptor de ácido retinóico e receptor de hormônio tireoideano (SMRT – do inglês *silencing mediator for retinoic acid receptor and thyroid hormone receptor*). Esses co-repressores interagem com o TR não ligado e RXR e reprimem a transcrição basal dos genes alvos, formando complexos com outros repressores, entre eles sin3 e histonas desacetilases (HDAC), promovendo desacetilação de histonas. Os dois principais co-ativadores identificados são o co-ativador de receptor de esteóide (SRC) e a proteína de interação com receptor de vitamina D/ proteína associada com receptor de hormônio tireoideano (DRIP/TRAP – do inglês *Vitamin D receptor interacting protein/TR associated protein*). Esses co-ativadores atuam na acetilação de histonas e ajudam no ancoramento de outras proteínas, incluído a RNA polimerase II⁷⁷. Já os mecanismos precisos pelos quais ocorre regulação negativa de genes pelo T3 são em grande parte desconhecida.

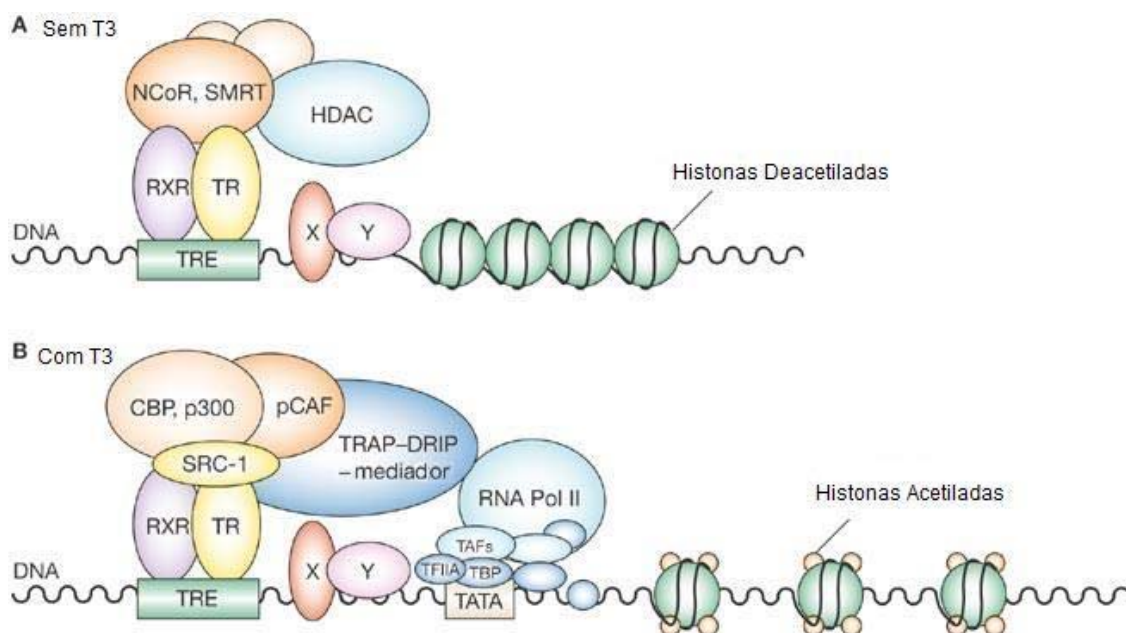


Figura 7: A: Modelo molecular de repressão da transcrição pelo receptor do hormônio tireoideano (TR) na forma de heterodímero com o receptor de ácido retinoico (RXR) na ausência de T3 em um gene positivamente regulado. O TR ligado às regiões regulatórias do gene alvo (TRE) recruta um complexo correpresor, que desacetila as histonas na região promotora, que compacta a cromatina. B: Ativação transcripcional na presença de T3 em um gene positivamente regulado. A ligação do T3 ao TR modifica sua estrutura conformacional, desfazendo sua interação com o correpresor. O TR passa então a interagir com o complexo de co-ativadores, acetilando histonas e relaxando a cromatina. Essas modificações permitem a organização da maquinaria de transcrição. Abreviaturas: NCoR, *nuclear receptor co-repressor*; SMRT, *silencing mediator for retinoic acid receptor and thyroid hormone receptor*; HDAC, *histone deacetylase*; CBP, *cAMP-response element-binding protein*; pCAF, *p300/CBP-associated factor*; Trap-DRIP, *Vitamin D receptor interacting protein/TR associated protein*; SRC-1, *steroid receptor co-activator*; TAFs, *TATA-binding protein-associated factor*; TF, *transcription factor*; TBP, *TATA-binding protein*. Retirado e Modificado de [HTTP://flipper.diff.org/app/pathways/info/969](http://flipper.diff.org/app/pathways/info/969)

Uma vez que a concentração sérica dos HTs é estável em indivíduos saudáveis, em condições normais, não se compreende como os HTs modificam o metabolismo em condições fisiológicas. A regulação distinta das desidases por diferentes cascatas de sinalização permite um padrão sofisticado de produção, liberação e regulação da concentração celular e sistêmica de T3 e outras iodotironinas. É possível que a desidatação ocasionada pela D2 altere a concentração intracelular de T3 e ocasione

saturação dos receptores de HT, alterando o funcionamento celular de forma rápida e tecido específica sem alterar as concentrações plasmáticas de HTs. Na concentração sérica normal, a contribuição do T3 na saturação dos TRs é de aproximadamente 50%, dependendo do tecido^{78,79,80}. Em tecidos que não apresentam D2, a concentração intracelular de T3 é determinada pela sua concentração sérica. Já em tecidos que expressam D2, a saturação dos receptores pode alcançar até 100% utilizando o T3 convertido dentro da célula^{78,79,80}.

Uma compartimentalização do T4 e de seus metabólitos nas células é postulada, principalmente nos tireócitos – uma vez que essas células seriam excessivamente expostas ao T3 originado da quebra da Tg. Alguns resultados dão suporte a essa hipótese, como a incompleta saturação dos TR e a presença de proteínas ligadoras no citoplasma dos tireócitos⁸¹.

Embora não plenamente compreendido, é conhecido que os HTs produzem efeitos não genômicos⁸² (Figura 8). Evidências para esses efeitos não genômicos incluem falta de dependência de TR, ação de análogos que possuem baixa afinidade por TR, ação rápida, ocorrência mesmo na presença de bloqueadores de transcrição e a utilização de cascatas de sinalização de membrana. Alguns desses efeitos utilizam TR localizados no citoplasma enquanto outros utilizam outras proteínas que ligam HTs.

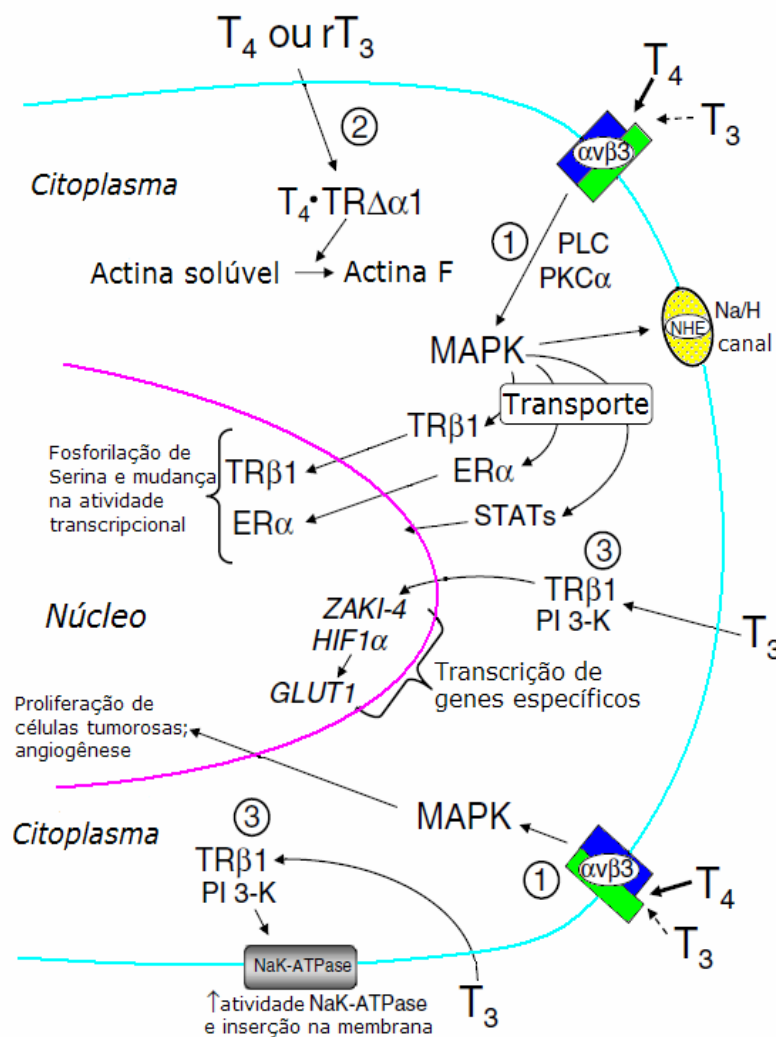


Figura 8: Representação esquemática de ações celulares não genômicas dos hormônios tireoideanos. 1) Ações de HTs via integrina $\alpha\text{v}\beta 3$. 2) Ações de HTs via $\text{TR}\Delta\alpha 1$. 3) Ações de HTs via $\text{TR}\beta 1$. Retirado e modificado de Davis e colaboradores⁸³.

Apesar dos TR serem primariamente receptores nucleares, aproximadamente 10% são encontrados no citoplasma⁸⁴. Os HTs estimulam a atividade da fosfatidil inositol 3 cinase (PI3K), que estimula canais de potássio ativados por voltagem, que diminuem a excitabilidade da membrana e diminuem a secreção hormonal⁸⁵. O $\text{TR}\beta$ interage com PI3K, inibindo sua ação e a ligação de T₃ ao TR diminui essa interação. Além do efeito descrito acima, PI3K é crítica para a proliferação celular, inflamação e captação de glicose e já

foram descritas ativação de PI3K por T3 nessas ações metabólicas⁸⁶. Já foi verificado que o TR α 1 também interage com PI3K⁸⁷.

Duas isoformas truncadas de TR α foram descritas em mitocôndrias. Uma se liga ao DNA mitocondrial e ativa a transcrição de genes em resposta ao HT. A outra em resposta ao T3 interage com proteínas desacopladoras, gerando respostas termogênicas rápidas^{88,89}. A ligação de T4 ou rT3 a TR $\Delta\alpha$ 1 citoplasmático pode regular o estado da actina, convertendo actina solúvel em fibrosa em células do sistema nervoso central⁹⁰.

Além dos TR, outras proteínas podem se ligar aos HTs. Em estudo de Bergh e colaboradores⁹¹, foi demonstrado que o domínio extracelular da integrina $\alpha V\beta 3$ (proteína de membrana plasmática) é um sítio receptor de hormônios tireoideanos, cuja ligação ao T4 ocasionou ativação de cascatas sinalizadoras intracelulares iniciadas por proteinocinase ativada por mitógenos (MAPK). A fosforilação de MAPK pode também levar a translocação nuclear do TR β 1 fosforilado, induzindo a transcrição basal por esse receptor⁹².

1.1.1.3. Efeitos

Os hormônios tireoideanos exercem efeitos em virtualmente todos os tecidos e suas ações fisiológicas podem ser divididas em duas categorias: efeitos sobre o desenvolvimento e diferenciação celular e efeitos sobre as vias metabólicas.

Alguns dos mais importantes efeitos dos hormônios tireoideanos ocorrem durante o desenvolvimento fetal e durante o início da infância. Muitos dos efeitos dos HTs não podem ser revertidos por tratamento hormonal após períodos denominados “janelas de desenvolvimento” indicando que estes efeitos dependem da combinação dos HTs com outros fatores de diferenciação que podem não estar disponíveis em estágios posteriores⁶³.

Em adultos, o principal efeito dos HTs é acelerar o gasto energético. São observados efeitos diretos sobre o consumo de oxigênio, assim como no metabolismo de proteínas, carboidratos, lipídios e vitaminas. Além dessas ações, os hormônios tireoideanos também podem alterar as taxas de síntese e degradação de outros hormônios e fatores de crescimento, podendo assim, influenciar outros eixos endócrinos⁶³.

Os hormônios tireoideanos são os principais reguladores de processos metabólicos oxidativos no organismo⁹³. A taxa metabólica é o somatório total de toda energia consumida em um dado tempo. O gasto mínimo que permite o funcionamento normal de um organismo é conhecido como taxa metabólica basal (TMB). A TMB inclui várias categorias de atividade biológica como ciclos iônicos, ciclos metabólicos, função muscular obrigatória e secreção de glândulas⁹⁴. A taxa metabólica basal é alimentada pela formação de ligações da alta energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP)⁹⁴. A manutenção da reserva de ATP que armazena e fornece energia para manter o metabolismo basal resulta em substancial produção de calor, denominada termogênese obrigatória⁹⁵. Portanto, os mecanismos fundamentais da termogênese e de seu controle estão relacionados, direta ou indiretamente, com o aparato mitocondrial de transdução de energia⁹³.

Os hormônios tireoideanos influenciam o turnover de uma série de reações cíclicas que ocasionam consumo de ATP, como o transporte Na^+/K^+ pela membrana plasmática⁹⁶ e o ciclo do cálcio entre citosol e sarcoplasma, na musculatura esquelética; além de uma série de ciclos semelhantes envolvendo outros íons, intermediários metabólicos e substratos energéticos, como por exemplo: lipólise/lipogênese, glicogenólise/glicogênese, proteólise/síntese protéica, formação óssea/reabsorção óssea, dentre outros^{95,97,98}.

Os hormônios tireoideanos estão envolvidos na regulação do metabolismo de lipídios e carboidratos no fígado, no músculo esquelético e no coração^{99,100}, também influenciando o metabolismo e o desenvolvimento do tecido adiposo através da modulação da proliferação e da diferenciação de adipócitos^{18,19}. Eles estimulam tanto a lipólise quanto a lipogênese⁹⁷.

Quanto à influência dos hormônios tireoideanos sobre o metabolismo da glicose, autores demonstraram, no tecido muscular, o efeito estimulatório sobre transportadores de glicose estimulados por insulina e sobre a fosforilação da glicose^{101,102}. Em músculo esquelético de ratos hipotireoideos observou-se redução da utilização de glicose estimulada por insulina (redução da conversão de glicose-6-fosfato a lactato) devido ao declínio da glicólise; e também aumento da conversão de glicose-6-fosfato a glicogênio. Observou-se, inclusive, redução da oxidação da glicose no músculo, diminuição dos níveis séricos de ácidos graxos livres e aumento da glicemia^{102,103}. Ao contrário, no hipertireoidismo, situação em que ocorre aumento do uso de glicose pelos tecidos devido ao aumento da demanda energética¹⁰⁴, em músculo de ratos hipertireoideos observou-se aumento da utilização de glicose estimulada por

insulina e conseqüente formação de lactato, principalmente em função da redução na síntese de glicogênio¹⁰⁵.

Os hormônios tireoideanos exercem importante estímulo sobre o transportador de glicose GLUT4¹⁰¹. Torrance e colaboradores¹⁰⁶ relataram aumento da expressão de GLUT4 no músculo esquelético de ratos hipotireoideos submetidos a tratamento (injeção intraperitoneal) com T3 por 10 dias. Além disso, em estudo realizado recentemente, foi feita a determinação da abundância de transportadores de glicose na membrana plasmática de monócitos de indivíduos hipertireoideos, em relação ao grupo controle: houve aumento de GLUT1, GLUT3 e GLUT4, além de a administração de insulina ter aumentado o recrutamento de GLUT3 e de GLUT4 para a membrana dessas células¹⁰⁴.

Em estudo de Cettour-Rose e colaboradores¹⁰⁷, ratos submetidos a tratamento com propiltiouracil (hipotireoideos) apresentaram - em comparação ao grupo controle - redução do turnover global da glicose e diminuição da utilização de glicose pela musculatura esquelética e pelo tecido adiposo em resposta à insulina. Portanto, o hipotireoidismo induziu a um estado de redução da responsividade das células à insulina. Ainda neste estudo, a glicemia basal dos ratos hipotireoideos encontrou-se normal, enquanto os níveis plasmáticos de insulina apresentaram-se ligeiramente reduzidos, provavelmente refletindo a inadequada secreção de insulina presente no hipotireoidismo¹⁰⁷.

Fukuchi e colaboradores¹⁰⁸ estudaram a influência dos hormônios tireoideanos sobre a secreção de insulina utilizando, para tal, ratos tornados hipertireoideos a partir de injeções intraperitoneais de altas doses de T4

(600µg/kg/dia) por duas semanas. Os animais apresentaram hiperglicemia e ausência de alterações significativas na insulina sérica em relação ao controle; tendo ocorrido, no teste de tolerância à glicose via oral, resposta insulínica deficiente e elevação extrema da glicemia (em relação ao grupo controle). Em células pancreáticas isoladas destes ratos, a secreção de insulina em resposta à administração de glicose apresentou-se reduzida, e os autores concluíram que a principal responsável pela tolerância anormal à glicose foi provavelmente a insuficiente resposta das células beta do pâncreas à glicose, tendo sido esse fator mais importante que uma possível resistência à insulina¹⁰⁸.

Em seres humanos, *in vivo*, as informações a respeito da influência de alterações do estado tireoideano sobre o metabolismo da glicose apresentam dados conflitantes. Em pacientes hipertireoideos, foram relatados casos de intolerância à glicose^{109,110,111}. Já no hipotireoidismo, foi relatada tanto a ocorrência^{112,113}, quanto a ausência^{111,114} de intolerância à glicose.

Em estudo envolvendo adipócitos provenientes de ratos hipertireoideos, não se observou alterações na captação de glicose induzida por insulina¹¹⁵. Diferentemente, em estudo com adipócitos isolados do tecido subcutâneo de pacientes hipo- e hipertireoideos, observou-se que a resposta das células à insulina encontrou-se inibida no hipotireoidismo e elevada no hipertireoidismo¹¹⁶.

No hipertireoidismo, a intolerância à glicose foi observada por vários autores^{109,110}. Em estudo de Ohguni e colaboradores¹¹⁷, pacientes com doença de Graves e hipertireoidismo apresentaram redução da sensibilidade à insulina e aumento da taxa de secreção basal de insulina (medida através do produto

da taxa de depuração metabólica da insulina pela insulina sérica basal), além de aumento da taxa de depuração da insulina. Em outro estudo envolvendo pacientes hipertireoideos, a concentração sérica de insulina em resposta à glicose oral encontrou-se elevada, enquanto a taxa de secreção de insulina (medida através da razão entre insulina sérica e glicose sangüínea), apresentou-se diminuída¹¹⁸.

A função tireoideana exerce influência sobre a concentração, a composição e o transporte de lipoproteínas. O hipotireoidismo é caracterizado por hipercolesterolemia e aumento dos níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que ocorre devido à redução do número de receptores para LDL no fígado e conseqüente redução de sua depuração¹⁶. Além disso, quando o hipotireoidismo é severo, as concentrações de lipoproteínas de alta densidade (HDL) encontram-se normais ou elevadas. No hipertireoidismo há aumento da excreção de colesterol e do turnover de LDL, resultando em diminuição do colesterol total, enquanto os níveis séricos de LDL apresentam-se reduzidos ou inalterados¹⁶. Todos os aspectos do metabolismo de lipídios, incluindo síntese, mobilização e degradação, são influenciados por HTs. Os HTs estimulam a utilização de lipídios levando a aumento da mobilização de triglicerídeos armazenados no tecido adiposo, mas também induzem lipogênese no fígado¹⁶. A estimulação simultânea da oxidação e síntese de ácidos graxos pode representar um ciclo fútil para o aumento de gasto de energia.

1.2. HORMÔNIOS DO TECIDO ADIPOSE

Obesidade é um problema de saúde, cuja incidência aumenta a cada dia. Sobrepeso e obesidade são associados a numerosas complicações, como diabetes tipo 2, hiperlipidemia, hipertensão arterial e aterosclerose¹¹⁹. Essas conseqüências da obesidade também são conhecidas como Síndrome Metabólica. Logo, a crescente preocupação com a obesidade tem levado a população a considerar o tecido adiposo branco (TAB) como indesejável.

O tipo predominante de tecido adiposo, comumente chamado de “gordura” em mamíferos, é o tecido adiposo branco. O TAB é composto de adipócitos imersos em tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado e innervado, e que contém macrófagos, fibroblastos, pré-adipócitos (precursores de adipócitos maduros) e outros tipos celulares. Os maiores depósitos de TAB são localizados na região subcutânea e ao redor das víceras. O TAB proporciona uma capacidade ilimitada de armazenar triglicerídeos, sendo vital para a sobrevivência. O aumento concomitante de insulina, glicose e lipídios durante uma refeição estimula a formação e armazenamento de triglicerídeos no fígado e no TAB. De forma inversa, a queda de insulina durante o jejum aciona a quebra de glicogênio e a lipólise pela ativação do sistema nervoso simpático e elevação de glucagon, epinefrina e glicocorticóides. Isso mantém o suprimento de glicose para o cérebro e órgãos vitais. Os ácidos graxos liberados pelo tecido adiposo durante o jejum são oxidados pelo músculo e fígado, gerando cetonas que servem de substrato alternativo para o cérebro e órgãos periféricos.

Por um longo tempo, a única função conhecida do TAB foi a descrita acima, de prover uma reserva de energia em longo prazo. Sendo assim, o tamanho do TAB aumenta em períodos em que a ingestão de alimentos é maior que o gasto energético e diminui quando o oposto ocorre. Além disso, o TAB também proporciona isolamento térmico, que é importante para mamíferos marinhos, como baleias e mamíferos de áreas polares, como os ursos.

A mudança crítica no pensamento em relação ao tecido adiposo branco ocorreu com a descoberta da leptina¹²⁰. Um papel endócrino para o TAB na regulação do balanço energético e outros processos fisiológicos foi estabelecido com a identificação da leptina, hormônio secretado principalmente pelos adipócitos, com ações centrais (principalmente no hipotálamo) e em órgãos periféricos. Mas a leptina não é a única proteína secretada pelo TAB. Existe um crescente número de sinais e fatores liberados pelos adipócitos, conhecidos como adipocitocinas, incluindo o fator α de necrose tumoral (TNF- α), adipsina, resistina, adiponutrina e outros^{119,121,122,123}. As proteínas secretadas pelo tecido adiposo têm um papel autócrino/parácrino na fisiologia do TAB e estão envolvidas com as complicações associadas à obesidade. Essas proteínas também agem em outros tecidos, regulando diversos processos. Por isso, hoje o tecido adiposo é considerado um importante órgão endócrino com papel importante na regulação da ação da insulina, na inflamação e na homeostasia.

1.2.1. Leptina

A leptina é um hormônio secretado principalmente pelo adipócito. A descoberta da leptina remete à década de 1950 quando um estudo realizado por Ingalls e colaboradores¹²⁴ identificou camundongos que tinham como característica hereditária e recessiva, o fenótipo de severa obesidade. Eles concluíram que estes animais apresentavam uma mutação que foi denominada obese (ob/ob). Depois, outro fenótipo de obesidade associado à diabetes mellitus precoce foi identificado em camundongos e a mutação postulada foi denominada diabetes (db/db)¹²⁵. Ambas as mutações causavam hiperfagia, diminuía o gasto de energia, causavam obesidade mórbida, resistência à insulina e anormalidades neuroendócrinas¹²⁵. Experimentos de parabiose feitos por Coleman¹²⁶ sugeriram que o gene ob produzia um fator humoral que diminuía o apetite e aumentava o metabolismo, enquanto que o gene db produzia um receptor para esse fator¹²⁶. Apesar da alteração ser conhecida há muito tempo, a proteína da leptina e do seu receptor propriamente ditos só foram descritos depois, por clonagem do gene ob¹²⁰ e do gen db¹²⁷.

A leptina parece ser um elo entre as reservas energéticas e a parte do cérebro envolvida na regulação do apetite e no gasto de energia^{4,128}. Além disso, ela age na regulação do eixo neuroendócrino, no sistema imune, na hematopoiese, proliferação endotelial e desenvolvimento cerebral⁴. A partir da descoberta da leptina, o tecido adiposo deixou de ser visto apenas como um depósito de energia e passa a ser considerado também como uma importante glândula endócrina.

1.2.1.1. Síntese e regulação

O gene *ob* foi isolado por clonagem posicional no tecido adiposo e expressa um mRNA de 4.5kb¹²⁰. O gene está localizado no cromossomo 7q31 em humanos e codifica uma proteína de 167 aminoácidos e 16kDa. Quando foi descoberta, acreditou-se que funcionava como uma alça de regulação negativa para regular a massa de tecido adiposo. Concordando com isso, a injeção da proteína *ob* diminuía o peso corporal e o tecido adiposo de camundongos normais e camundongos *ob/ob*, mas não do camundongo *db/db*^{129,130}. Devido a sua capacidade de reduzir o peso corporal, a proteína foi chamada leptina, que vem do grego *leptos*, que significa magro, fino. O camundongo *ob/ob* tem uma mutação no gene que impede a produção da proteína. Apesar do gene *ob* estar relacionado com obesidade em estudos com famílias humanas, mutações no gene são muito raras¹³¹, nesses casos existe uma maior frequência de resistência do receptor¹³².

A leptina é sintetizada principalmente pelo adipócito e é regulada pelo estado nutricional^{4,128}. Ela é produzida em maior quantidade no tecido subcutâneo¹³³. Existe correlação positiva entre leptina sérica, IMC e quantidade de gordura corporal^{3,134}, o que é demonstrado pelos níveis de mRNA e de leptina plasmática maiores em pessoas obesas que em pessoas magras. A leptina encontra-se aumentada na alimentação excessiva⁴, e diminuída no indivíduo emagrecido, em dieta hipocalórica⁵, na anorexia nervosa e em casos de lipoatrofia¹³⁵. Em ratos, a concentração sérica de leptina aumenta depois de uma refeição, o que não acontece em seres humanos^{136,137}. O jejum resulta na diminuição da leptina sérica de maneira desproporcional em relação à redução

do tecido adiposo e do peso corporal, em ratos e em seres humanos. Isso sugere que a leptina pode ser um indicador do balanço energético corporal^{138,139}.

Foi descrito, em rato e seres humanos, que a leptina segue um ritmo circadiano, sendo o seu pico à noite em seres humanos e ou no fim do ciclo de alimentação em roedores^{136,138}.

A concentração sérica de leptina difere entre os sexos, tendo as mulheres concentrações maiores, independentemente da idade e do peso¹⁴⁰. A síntese de leptina é inibida por testosterona, sendo esse um dos motivos da diferença entre os sexos¹⁴¹.

A leptina tem a sua produção regulada por diversos fatores. A prolactina é capaz de inibir a secreção de leptina em adipócitos isolados de ratos¹⁴². O TNF- α diminui a secreção de leptina em adipócitos do tecido subcutâneo e omental de indivíduos magros e obesos¹⁴³. Já foi demonstrado que o tratamento com agonistas do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma (PPAR) diminui a secreção de leptina em explantes de tecido adiposo humano¹⁴⁴, assim como diminui a expressão do seu mRNA em adipócitos diferenciados^{145,146}. A dexametasona é capaz de estimular a expressão do mRNA de leptina em explantes de tecido adiposo branco epididimal de ratos e adipócitos humanos em cultura^{145,147,148,149}. A insulina não teve efeito sobre expressão do mRNA de leptina em explantes de tecido adiposo branco epididimal de ratos¹⁴⁷, mas em adipócitos isolados ela foi capaz de estimular a expressão e secreção de leptina^{150,151}.

A leptina é expressa em outras células além do adipócito. Níveis altos de mRNA e proteína são encontrados na placenta de ratos e seres humanos^{152,153}. Ela também é encontrada na musculatura esquelética¹⁵⁴, assim como no hipotálamo e na adeno-hipófise¹⁵⁵. Sua síntese em células epiteliais das glândulas mamárias, onde é secretada no leite e absorvida por crianças lactantes, sugere que ela regule a ingestão de alimentos e o balanço energético de lactantes¹⁵⁶. Também foi demonstrada a expressão de leptina na mucosa gástrica¹⁵⁷. A ingestão de alimentos ou a administração de colecistocinina, em ratos, diminui o conteúdo celular gástrico e aumenta as concentrações plasmáticas de leptina; logo, essa leptina proveniente da mucosa gástrica poderia atuar localmente no trato gastrintestinal e no cérebro para induzir saciedade¹⁵⁷.

Aparentemente, a leptina não sofre modificações pós-traducionais¹⁵⁸. Análises de sedimentação mostraram que a leptina se liga a proteínas plasmáticas e também forma complexos com receptores solubilizados na circulação¹⁵⁸. Em indivíduos magros, a maior parte da leptina está ligada aos receptores solúveis, enquanto que em indivíduos obesos o contrário ocorre¹⁵⁸. A leptina é depurada principalmente no rim¹⁵⁹.

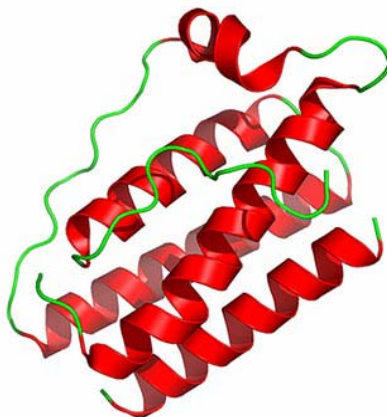


Figura 9: Estrutura terciária da leptina. Retirado de <http://www.biochem.arizona.edu/classes/bioc462/462bh2008/462bhonorsprojects/462bhonors2006/warzeckas/warzeckahome.htm>

1.2.1.2. Mecanismos de ação

Os receptores de leptina (Ob-R) foram isolados em 1995. Eles pertencem à família do receptor de citocina de classe 1¹²⁷. O gene codifica por splicing diferentes isoformas do receptor (Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re e Ob-Rf)¹⁶⁰. Todas as isoformas compartilham um domínio de ligação extracelular idêntico, mas diferem na porção C-terminal. Ob-Re é o único que não possui domínio transmembrana e é secretado.

A leptina age principalmente se ligando ao receptor de forma longa (Ob-Rb), que ativa a via JAK/STAT (*Janus kinase/* Transdutores de sinal e ativadores de transcrição), promovendo transcrição gênica¹⁶¹ (Figura 10). Regiões do cérebro envolvidas com o balanço energético, como o núcleo arqueado e hipotálamo ventromedial e dorsomedial, expressam altos níveis de Ob-Rb¹⁶². O Ob-Rb também é expresso na hipófise¹⁶³, na tireóide¹⁶⁴ e em outros tecidos periféricos¹⁶⁵. Apesar dos receptores estarem distribuídos em

vários tecidos, várias evidências sugerem que a leptina age principalmente no cérebro. Isso porque injeções intracerebroventriculares agem de forma mais potente sobre a ingestão de alimentos, gasto de energia e alteração de peso corporal, que injeções periféricas^{129,130}.

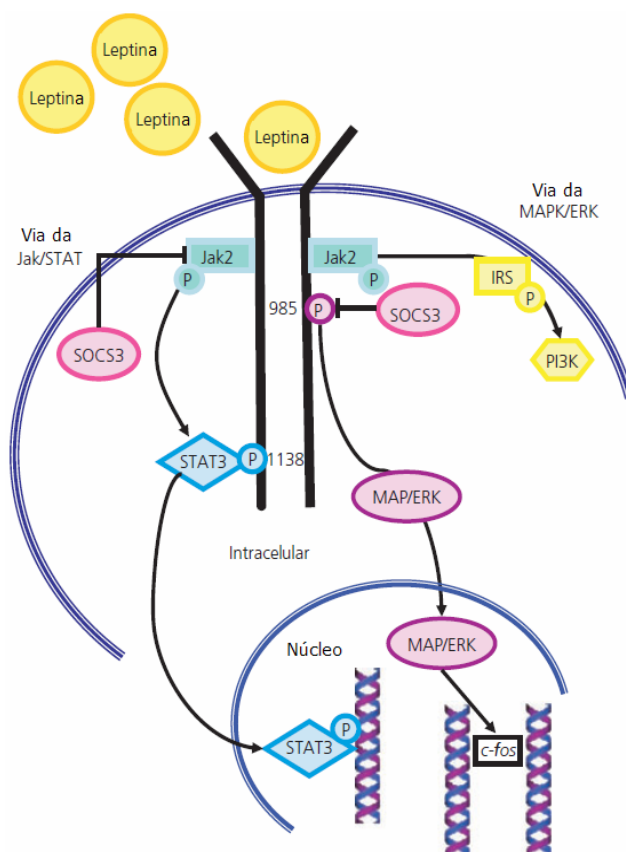


Figura 10: Ligação de leptina ao seu receptor de membrana, ativando cascatas de sinalização intracelular. Retirado e modificado de Henry e Clarke¹⁶⁹.

Como pode ser observado na Figura 10, após a ligação da leptina com o Ob-Rb, ocorre a dimerização do receptor que é necessária para a atividade sinalizadora¹⁶⁶. A ligação da leptina ao Ob-Rb promove a ativação e autofosforilação de JAK-2 em numerosos resíduos de tirosina, bem como a fosforilação de resíduos de tirosina do próprio receptor, identificadas como

Tyr₁₁₃₈ e Tyr₉₈₅. Os sítios intracelulares de tirosina fosforilados da JAK atuam como região de ancoragem para os domínios homólogos a Src (SH2 e SH3) presentes em todas as proteínas STAT¹⁶⁷. Estas, após serem ativadas, dimerizam e dirigem-se ao núcleo onde se ligam ao DNA e ativam a transcrição. Além destes genes, STAT-3 ativa a transcrição do gene da proteína supressora da sinalização de citocinas (SOCS-3), que é responsável pela regulação negativa da sinalização da leptina¹⁶⁸, e para tal é importante a presença de resíduos de tirosina fosforilados no receptor – Tyr₉₈₅¹⁶⁸. Além disso, JAK2 estimula a via do substrato de insulina (IRS)/PI3K¹⁶⁹. Tyr₉₈₅ também pode recrutar a via de MAPK/ERK.¹⁶⁹

As outras isoformas (Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd e Ob-Rf) são denominadas formas curtas e, de forma geral, sua distribuição é bastante ampla incluindo o tecido adiposo, o fígado, coração, rim, pulmão, intestino, testículo, ovário, baço e pâncreas¹⁷⁰. Tais isoformas eram tidas como não funcionais ou com pouca capacidade de transdução de sinal para o meio intracelular. Entretanto, demonstrou-se posteriormente que após a ligação da leptina e a dimerização desses receptores denominados “curtos”, observa-se a fosforilação do IRS-1 com conseqüente ativação de MAPK¹⁷¹.

À isoforma curta do receptor (Ob-Ra) presente no plexo coróide é atribuído o papel de transportador de leptina através da barreira hematoencefálica¹⁷², enquanto às isoformas curtas Ob-Rc e Ob-Rd, atribui-se algum papel na depuração da leptina a partir da circulação¹⁶⁰.

1.2.1.3. Efeitos

O conceito de um mecanismo para a regulação do peso é baseado na observação de que, em mamíferos, o peso é estável por longos períodos de tempo. A maioria dos mamíferos tem a capacidade de se adaptar ao excesso de alimento ou ao jejum ajustando o consumo e o gasto energético, mantendo tanto o peso corporal como a adiposidade constantes. O principal fator para essa adaptação é a capacidade de guardar o excesso de energia como triglicerídeos no tecido adiposo. Essa gordura pode ser estocada de forma quase anídrica em depósitos subcutâneos, abdominais e viscerais, aumentando a capacidade de armazenamento do excesso de calorias para usar em épocas de falta de alimento.

Depois da descoberta do gene *ob*, vários estudos mostraram que injeções de leptina intracerebroventricular e periféricamente inibiam a ingestão alimentar, aumentavam o gasto energético e induziam perda de peso em camundongos *ob/ob*^{129,130}. O aumento do gasto energético provavelmente é resultado da estimulação do sistema nervoso simpático no tecido adiposo marrom, do aumento da termogênese em outros tecidos, pelo aumento da expressão da proteína desacopladora (UCP), e do aumento da atividade locomotora¹⁷³.

A observação da capacidade da leptina, administrada de forma farmacológica, de diminuir o peso corporal foi a base da formação do conceito da leptina agir como um hormônio antiobesidade. Entretanto, com o desenvolvimento de técnicas de imunoensaio para leptina, ficou claro que

roedores e seres humanos obesos tinham níveis de leptina altos na circulação (menos o ob/ob). Portanto, a leptina exógena não reverteria a obesidade, permanecendo apenas o conceito primário da leptina como um regulador negativo para limitar o peso corporal.

A queda de leptina que ocorre durante o jejum pode ser vista como um sinal para o cérebro de que as reservas energéticas estão diminuindo^{4,138}. Como o jejum é um grande desafio à sobrevivência, foram desenvolvidos mecanismos de defesa neurais, metabólicos, hormonais e de comportamento⁴. Na resposta clássica ao jejum, uma mudança no metabolismo de carboidratos para gorduras é observada assim que os estoques de glicogênio do fígado chegam a um limite mínimo. Essa adaptação é mediada por queda de insulina e aumento de glucagon, adrenalina e glicocorticóides. O eixo do hormônio do crescimento também está envolvido. Ele aumenta com o jejum em humanos, enquanto o fator de crescimento insulina-símile diminui. Outras adaptações ao jejum são: a supressão do eixo tireoideano e gonadal, queda na temperatura corporal e aumento do apetite.

A hipótese de que a queda de leptina regula a adaptação metabólica e neuroendócrina ao jejum foi testada em camundongos. Impedindo-se essa queda com reposição de leptina, não ocorreu ativação do eixo adrenal e evitou-se, em grande parte, a supressão do eixo tireoideano e gonadal no jejum. Os níveis baixos de leptina medeiam, em grande parte, a resposta hormonal ao jejum, agindo no hipotálamo^{4,138,174}.

Estudos de lesões no sistema nervoso central, desenvolvidos há bastante tempo, mostraram o hipotálamo como um local importante para a

regulação da ingestão de alimentos e metabolismo. Uma lesão no hipotálamo ventromedial causa excesso de ingestão alimentar e obesidade, enquanto que uma lesão no hipotálamo lateral leva o animal a parar de comer¹⁷⁵. Esses resultados levaram à formação do modelo dual de ingestão e regulação do peso corporal. A descoberta da leptina reavivou o interesse nesse modelo, pois os animais ob/ob e db/db têm o mesmo tipo de resposta que os animais com lesões no ventromedial.

Neurônios alvos da leptina expressam neurotransmissores/neuropeptídeos envolvidos no apetite, gasto energético e regulação do peso corporal. Neurônios do núcleo arqueado expressam altos níveis de Ob-Rb e também expressam neuropeptídeo Y (NPY), peptídeo relacionado à proteína agouti (AGRP), precursor de hormônio estimulador de melanocitos (POMC) e α -melanocortina (α -MSH)^{176,177}. Esses neurônios projetam seus axônios para a área ventromedial e parecem regular funções autonômicas e neuroendócrinas. Quando projetam para a área lateral, parecem regular a ingestão de alimentos. Os peptídeos NPY e AGRP aumentam a ingestão alimentar e sua síntese está aumentada na deficiência de leptina e diminuída na sua presença^{176,177}. POMC é um precursor de α -MSH e diminui a ingestão de alimentos. A sua expressão diminui no jejum e aumenta com a administração de leptina^{176,177}.

É provável que a diminuição do apetite ocasionada pela leptina seja causada pela diminuição nos níveis de NPY e AGRP e aumento dos de POMC e α -MSH, assim como o aumento do apetite seja ocasionado pelo aumento da expressão de NPY e AGRP e diminuição dos de POMC e α -MSH. Esses são

os principais, mas existem outros peptídeos orexígenos e anorexígenos envolvidos nesse controle.

A administração diária de leptina leva à perda de peso corporal, não apenas pela diminuição do apetite, e conseqüente diminuição da ingestão de alimentos em camundongos^{129,130}, mas também devido ao aumento da taxa metabólica, da termogênese e da normalização do quadro hiperglicêmico e de hiperinsulinemia observado antes da perda de peso¹⁷⁸. Em roedores, *in vivo*, a leptina aumentou a expressão de UCP1, UCP2 e/ou UCP3 no tecido adiposo, pâncreas, fígado e musculatura esquelética, sugerindo ser esta uma das formas através das quais a leptina ocasiona aumento do gasto energético e catabolismo de lipídios^{179,180,181}. Porém, os efeitos da leptina não se restringem aos descritos acima. Ela parece ser essencial para o eixo reprodutivo, como mostrado pela sua capacidade de restaurar a fertilidade do camundongo ob/ob e acelerar a puberdade de camundongos normais^{182,183}.

A leptina também tem a capacidade de regular o metabolismo de glicose e lipídeos, independente da sua ação no peso corporal. Ela estimula a lipólise, gliconeogênese e o catabolismo de glicose^{184,185} através da estimulação da oxidação de ácidos graxos e hidrólise de triacilglicerol, reduzindo o armazenamento de gordura^{181,186}. Um possível papel no desenvolvimento é sugerido pela sua presença na placenta. Ela também deve ter um papel no desenvolvimento do cérebro, dado as anormalidades apresentadas pelos camundongos ob/ob e db/db¹⁸⁷.

1.2.2. Adiponectina

A adiponectina foi identificada independentemente por quatro grupos, usando diferentes métodos. O primeiro a ser identificado foi o cDNA de camundongo e sua respectiva proteína, chamada Acrp30 (*adipocyte complement-related protein of 30 kDa*)¹⁸⁸. O cDNA de tecido adiposo humano foi isolado de uma biblioteca e chamado de apM1 (*adipose most-abundant gene transcript 1*)¹⁸⁹. Outro grupo a identificou em ratos e camundongos e nomeou esta nova proteína como adipoQ¹⁹⁰. Já a proteína humana foi isolada do plasma e nomeada GBP28 (*gelatin-binding protein of 28 kDa*)¹⁹¹. Como se acreditava que o produto predito era algum tipo de proteína de matriz, Arita e colaboradores¹⁹² decidiram chamá-la adiponectina, nome mais utilizado na literatura desde então.

1.2.2.1. Síntese e regulação

A expressão de adiponectina é maior no tecido adiposo branco subcutâneo humano que no visceral¹⁹³. Em estudo *in vitro*, com adipócitos humanos, a secreção de adiponectina por células isoladas do tecido adiposo omental (visceral) foi maior que a secreção por adipócitos do tecido subcutâneo¹⁹⁴. Já em roedores, a expressão e secreção de adiponectina no tecido adiposo visceral se mostrou maior que no tecido adiposo subcutâneo^{195,196}. Essa proteína também é expressa no tecido adiposo marrom de camundongos¹⁹⁷.

Apesar de a secreção de adiponectina ocorrer principalmente no tecido adiposo, já foram relatados outros locais de síntese e liberação deste hormônio, com provável função autócrina e/ou parácrina¹⁹⁸. Já foi demonstrada, *in vitro*, a secreção e a expressão de adiponectina em cultura de osteoblastos primários humanos¹⁹⁹, produção e secreção por cardiomiócitos em cultura de células humanas e murinas¹⁹⁸ e pela placenta²⁰⁰. Também já foi descrita a indução da produção de adiponectina por células hepáticas lesionadas de camundongos²⁰¹. Já no músculo esquelético, foi demonstrado que a expressão de adiponectina pôde ser induzida por estímulos inflamatórios e pela própria adiponectina^{202,203}.

O gene da adiponectina humano está localizado no cromossomo 3, locus 3q27²⁰⁴. No camundongo, está localizado no cromossomo 16, locus 16B3-B4²⁰⁵. Esse gene possui três exons e dois introns^{204,205}. Em humanos, o único mRNA transcrito encontrado tinha 4,5kb, enquanto que no camundongo o mRNA predominante tem 1,2kb, com uma expressão menor de um transcrito de 4,5kb e, em algumas circunstâncias, um transcrito de 1,4kb aparece^{190,205}. A diferença nesses mRNAs é na região 3' não traduzida²⁰⁵.

A proteína apresenta 244 aminoácidos e 28 kDa no homem², e 247 aminoácidos e 30 kDa no camundongo, com quatro domínios estruturais¹⁸⁸. A estrutura primária da adiponectina compreende uma região amino-terminal formada por uma seqüência sinalizadora, seguida por uma curta região de 24 aminoácidos no homem e 27 no camundongo, muito variável, onde não se observa homologia entre as espécies animais. Há, em seguida, uma região colágena contendo 22 repetições idênticas formadas por resíduos de glicina^{2,188}. Finalizando sua estrutura, a adiponectina possui uma região

carboxi-terminal com estrutura globular homóloga à de outras proteínas da sua família, tais como o domínio globular dos colágenos tipo VIII e X²⁰⁶, as subunidades do complemento Clq²⁰⁷ e uma proteína encontrada no soro de animais que hibernam, a hib27^{188,190,208}.

Após ser sintetizada, a adiponectina sofre hidroxilação e subsequente glicosilação em quatro locais diferentes, que combinados dão origem a oito isoformas distintas²⁰⁹. A estrutura cristalina revela homologia com a família do TNF²¹⁰. A estrutura básica é formada pela união de três monômeros pelo domínio globular (30 kDa) que não foi observada na circulação. Esses trímeros (LMW) se unem para formar oligômeros, sendo esta as formas encontradas na circulação. Esses oligômeros se dividem em dois grupos: estrutura de peso molecular médio (MMW) ou hexâmero, unindo dois trímeros, resultando uma molécula com 180 kDa, e outro, de peso molecular alto (HMW), unindo de quatro a seis trímeros, com mais de 400 kDa, que podem se unir em forma de buquê ou de leque^{188,211} (Figura 11, Figura 12 e Figura 13). As duas conformações juntas têm uma concentração sérica muito elevada, correspondendo a 0,01% do total das proteínas plasmáticas em humanos, com concentração maior nas mulheres que nos homens, e 0,05% em roedores^{188,192}. O HMW constitui a adiponectina em maior concentração dentro do adipócito, mas a que tem a maior concentração no sangue é o MMW²¹². Uma vez que o HMW parece ser a forma ativa, mudanças na razão entre HMW e MMW no plasma podem ter algum impacto na atividade dessa proteína²¹². Apesar de não estar presente na circulação, o trímero possui bioatividade aumentada em relação aos oligômeros²¹². Isso sugere que o HMW pode ser um precursor processado a trímeros na superfície da célula. O trímero de

adiponectina também pode sofrer clivagem proteolítica, formando uma adiponectina que só contém o domínio globular⁷, que não se associa em MMW e HMW²¹⁰. Já foi demonstrado que farmacologicamente esse fragmento é funcional⁷.

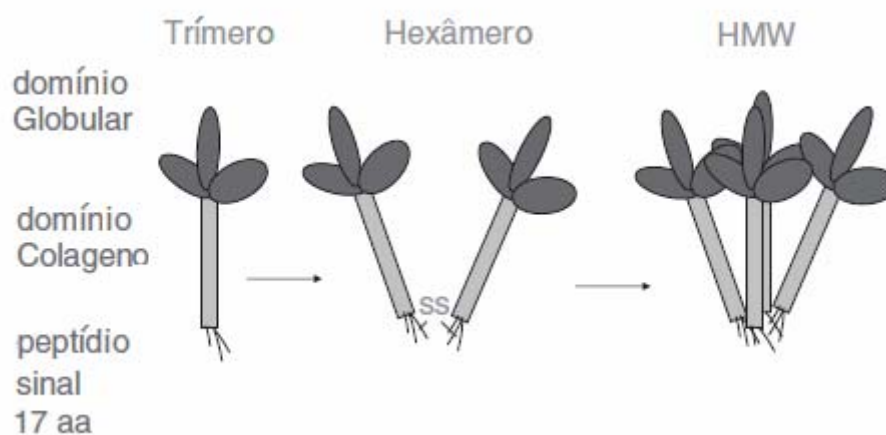


Figura 11: Principais estruturas quaternárias da adiponectina. Trímero ou LMW, Hexâmero ou MMW e Multímero ou HMW. SS - ponte dissulfeto. Retirado e modificado de Garaulet²¹³.

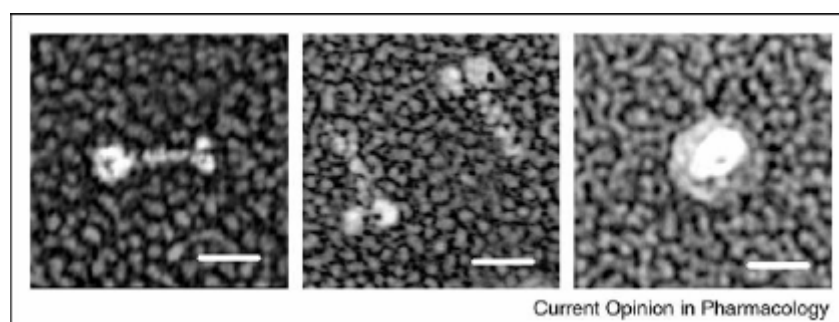


Figura 12: Micrografia eletrônica das 3 isoformas de adiponectina LMW, MMW e HMW. Retirado de Hug e Lodish²¹⁴.

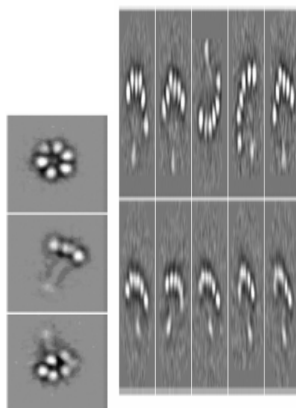


Figura 13: Micrografia eletrônica da isoforma HMW, mostrando as configurações em buquê e em leque. Retirado de Radjainia²¹¹.

A meia-vida da adiponectina no soro é relativamente longa, de duas a seis horas²¹². Gavrilu e colaboradores²¹⁵ encontraram que, em homens saudáveis, a concentração no sangue varia durante o dia, com uma queda durante a noite e concentração máxima no fim da manhã. Também foi observada uma pulsatilidade ultradiana na concentração de adiponectina²¹⁵. Entretanto, outros autores não observaram - em indivíduos não-obesos saudáveis e em diabéticos - variações séricas expressivas da adiponectina ao longo de 24 horas^{216,217,218}. Além disso, em indivíduos obesos, há relatos de ausência de variações circadianas^{219,217}. Já em ratos, foi demonstrado ritmo circadiano na expressão de mRNA de adiponectina em três depósitos de gordura do organismo: mesentérico, epididimal e retroperitoneal²²⁰. As variações não resultaram, entretanto, em alterações nos níveis séricos, que se mantiveram praticamente constantes ao longo do dia²²⁰. Em camundongos, a expressão de mRNA no tecido adiposo visceral perigonadal apresentou ritmicidade circadiana: entretanto, neste estudo não foi feita a dosagem da adiponectina sérica²²¹.

Um das características mais interessantes da adiponectina é que, ao contrário das outras adipocitocinas que são reguladas positivamente pela obesidade, a expressão e concentração plasmática dessa proteína diminuem em indivíduos com sobrepeso ou obesos^{190,192,222}. Isso também foi observado em diferentes modelos animais. Ratos obesos também apresentam concentrações reduzidas de adiponectina em comparação a ratos normais e a concentração aumentou quando esses animais perderam peso²²³. Interessante acrescentar que nesse modelo de obesidade as variações de adiponectina ocorreram apenas no tecido adiposo branco visceral, não estando presente no subcutâneo. Camundongos ob/ob¹⁹⁰, camundongos db/db^{13,224} e camundongos alimentados com dieta hipercalórica¹³ demonstraram o mesmo padrão de diminuição da secreção.

Em humanos, a concentração plasmática de adiponectina se correlaciona negativamente com o IMC, percentual de gordura, razão cintura/quadril, concentração em jejum de insulina²²², triglicerídeos plasmáticos²²⁵ e massa de tecido adiposo²²⁶.

A síntese e secreção de adiponectina são reguladas por diversos mecanismos. As drogas antidiabéticas da classe das tiazolidinedionas (TZDs) são ligantes sintéticos do PPAR γ capazes de aumentar a sensibilidade à insulina e reduzir a hiperglicemia²²⁷. Autores demonstraram, através de estudos *in vitro*, que a administração de TZD causou aumento da expressão do mRNA da adiponectina e/ou aumento da secreção de adiponectina em cultura de células do TAM¹⁹⁷, cultura de adipócitos 3T3-L1^{227,228} e células isoladas de tecido adiposo omental humano¹⁹⁴. Em camundongos db/db, os agonistas de

PPAR- γ aumentaram a concentração plasmática e o mRNA para adiponectina²²⁷, porém em outro estudo com animais db/db o mRNA diminuiu²²⁴. Foi observada alteração da expressão de mRNA de adiponectina em camundongos db/db após a administração de agonistas de PPAR- α ²²⁴, mas não em adipócitos de db/db em cultura²²⁷.

Foi identificado, na região promotora do gene da adiponectina humana, um elemento responsivo a PPAR, no qual o heterodímero PPAR γ /RXR foi capaz de se ligar e estimular a transcrição gênica da adiponectina²²⁹.

Em estudos *in vivo* envolvendo seres humanos saudáveis, diabéticos e obesos observou-se aumento dos níveis sanguíneos de adiponectina em função do tratamento com TZDs^{227,228,230}. Combs e colaboradores²²⁸ sugeriram que a adiponectina poderia ser utilizada como marcador biológico da ativação do PPAR γ . Semelhantemente, em modelos de camundongos diabéticos e obesos (db/db), a alimentação, por duas semanas, com ração à qual foi adicionada troglitazona ou pioglitazona ou rosiglitazona (TZDs), ocasionou elevação da concentração plasmática de adiponectina em relação ao grupo controle²²⁷.

Quanto à influência da insulina sobre a regulação da produção de adiponectina, estudos revelam resultados conflitantes. Fasshauer e colaboradores²³¹ demonstraram, em estudo envolvendo cultura de adipócitos 3T3-L1, a regulação negativa exercida sobre a expressão do gene da adiponectina: houve redução da expressão do mRNA entre 68% e 85%, em comparação com o controle. Em estudo com adipócitos humanos, *in vitro*, a secreção de adiponectina por células isoladas de tecido adiposo omental

encontrou-se aumentada após incubação com insulina. Este aumento foi ainda maior quando foi feita a administração de insulina juntamente com rosiglitazona, no meio de cultura¹⁹⁴. Entretanto, diferentemente, a secreção de células do tecido adiposo subcutâneo não foi influenciada por esse tratamento¹⁹⁴. Em outro estudo envolvendo explantes de tecido adiposo visceral humano, a insulina exerceu efeito estimulador sobre a expressão do gene da adiponectina²³². Além disso, em cultura de adipócitos T37i, do tecido adiposo marrom, a administração de insulina ocasionou aumento da expressão do mRNA da adiponectina¹⁹⁷.

O fator de crescimento insulina símile 1 estimulou a expressão de mRNA de adiponectina *in vitro* em explantes de tecido adiposo visceral humano²³². Tratamento com altas concentrações de glicose aumentou a expressão do mRNA para adiponectina em adipócitos 3T3-L1²³³.

Os glicocorticóides, em experimentos *in vitro*, regularam negativamente a expressão da adiponectina, em linhagens celulares de tecido adiposo 3T3-L1 e T37i e no tecido adiposo branco humano^{197,231,232}. Em um estudo realizado com adipócitos humanos isolados do tecido adiposo subcutâneo, a dexametasona inibiu significativamente a liberação da adiponectina após 24 horas de tratamento¹⁴³.

O TNF- α suprime a expressão de adiponectina, o que poderia explicar parcialmente a resistência à insulina induzida pelo TNF- α ²²⁷. A secreção de adiponectina é inibida por análogos de cAMP^{195,234}, agonistas β -adrenérgicos^{195,235}, ativadores de adenilato ciclase²³⁵, prolactina e hormônio do crescimento²³⁶.

Como já mencionado anteriormente, a concentração de adiponectina é maior nas fêmeas que nos machos. A castração neonatal de camundongos machos permite que estes alcancem a adiponectina sérica das fêmeas²³⁷. A castração de machos adultos aumenta a concentração de adiponectina, mas tem um efeito menor que a castração neonatal^{237,238}. *In vitro*, a testosterona inibiu a secreção de adiponectina²³⁸. Ovariectomia neonatal de camundongos fêmea não interferiu com o aumento da adiponectina na puberdade e ovariectomia em fêmeas adultas aumentou a concentração de adiponectina²³⁷. Diretamente, o estrogênio inibiu a secreção de adiponectina em células 3T3-L1²³⁷. Esse paradoxo sugere que o efeito inibitório do estrogênio não consegue eliminar o dimorfismo específico ao sexo. A única manipulação que conseguiu mudar essa diferença é a castração neonatal de machos, sugerindo que o aparecimento da testosterona tem um papel no estabelecimento desse dimorfismo da adiponectina.

Com relação à idade, há artigos que relataram ausência de variação expressiva na concentração sérica de adiponectina, em homens e mulheres adultos entre 30 e 75 anos de idade^{192,239}. Já outros autores demonstraram a correlação positiva entre adiponectina sérica e idade^{240,241}.

A temperatura ambiental pode causar alteração nos níveis séricos de adiponectina²⁴². Os autores relataram, em camundongos expostos a frio de 4°C, a ocorrência de aumento na concentração sérica e na expressão do mRNA da adiponectina no TAB.

Como a obesidade, a lipoatrofia também é associada com resistência à insulina, hiperinsulinemia e hiperglicemia. A lipoatrofia experimental em

camundongos heterozigotos $PPAR\gamma^{+/-}$ foi induzida tratando os animais com antagonistas do RXR. Eles apresentaram hipoadiponectinemia e a administração de adiponectina diminui a hiperglicemia e hiperinsulinemia nesse modelo¹³. Pacientes com anorexia nervosa são desnutridos e apresentam conteúdo de gordura corporal extremamente reduzido. Eles apresentam concentração sérica de adiponectina aumentada em relação aos controles pareados por idade e sexo.

1.2.2.2. Mecanismo de ação

O mecanismo pelo qual a adiponectina exerce a sua função é controverso e desconhecido em sua maior parte. Existem dois receptores para adiponectina identificados: AdipoR1 e AdipoR2²⁴³ (Figura 14). Em camundongos, ocorre expressão de mRNA de AdipoR1 e AdipoR2 em cérebro, coração, rins, fígado, pulmões, musculatura esquelética, baço e testículos. Enquanto o receptor AdipoR1 encontrou-se amplamente expresso no organismo, o receptor AdipoR2 apresentou-se expresso predominantemente no fígado²⁴³. Já em ratos, Satoh e colaboradores²⁴⁴ observaram maior expressão de AdipoR1 e AdipoR2 no músculo esquelético, em comparação com o tecido hepático. Além disso, já foram descritos receptores em células β pancreáticas²⁴⁵, macrófagos e lesões arterioscleróticas²⁴⁶.

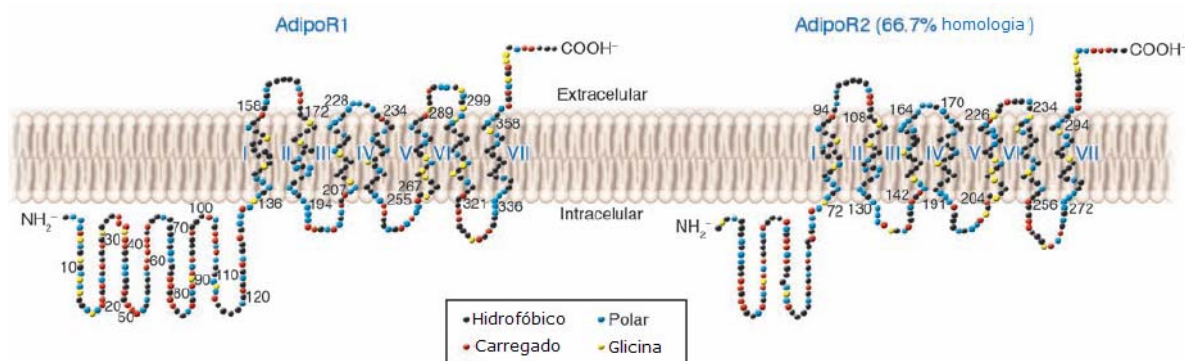


Figura 14: Estrutura dos receptores de adiponectina. AdipoR1 e AdipoR2 contêm 7 domínios transmembrana. Retirado e modificado de Kadowaki e colaboradores²⁴⁷.

Esses receptores são proteínas integrais de membrana, parecidas com as da família dos receptores acoplados a proteína G, mas com a região N terminal interna e C terminal externa - o que é oposto das proteínas da família da proteína G²⁴³. O domínio extracelular interage com a adiponectina enquanto o domínio interno interage com a Proteína adaptadora contendo domínio de homologia com pleckstrin, domínio de ligação com fosfotirosina e motivo de zipper de leucina (APPL – do inglês *adaptor protein containing pleckstrin homology domain, phosphotyrosine-binding domain, and leucine zipper motif*). A interação de APPL com AdipoR1 é estimulada pela ligação da adiponectina e parece ter um importante papel na ativação de proteína cinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) pela adiponectina²⁴⁸.

O receptor muscular é ativado principalmente por fragmentos contendo apenas o domínio globular, enquanto o receptor hepático responde melhor à adiponectina íntegra. A ligação de adiponectina com seu receptor aumenta AMPK e ativa PPAR α levando, em última instância, à entrada de glicose e oxidação de ácidos graxos²⁴³. A expressão de mRNA dos receptores no fígado e no músculo aumenta com jejum e a realimentação rapidamente diminui a

expressão para a quantidade presente no animal normal²⁴⁹. Também ocorre aumento significativo do mRNA no músculo esquelético de animais que se tornam diabéticos pelo tratamento com streptozotocina e o mRNA foi restaurado à níveis normais tratando os animais com insulina²⁴⁹. Esses dados demonstram que a regulação do receptor também deve estar incluída no mecanismo de desenvolvimento de resistência à insulina. No fígado AdipoR1 aumenta AMPK, que reduz a expressão de genes que codificam enzimas gliconeogênicas e lipogênicas²⁵⁰. Já AdipoR2 ativa PPAR α , aumentando a captação de glicose e a oxidação de ácidos graxos²⁵⁰.

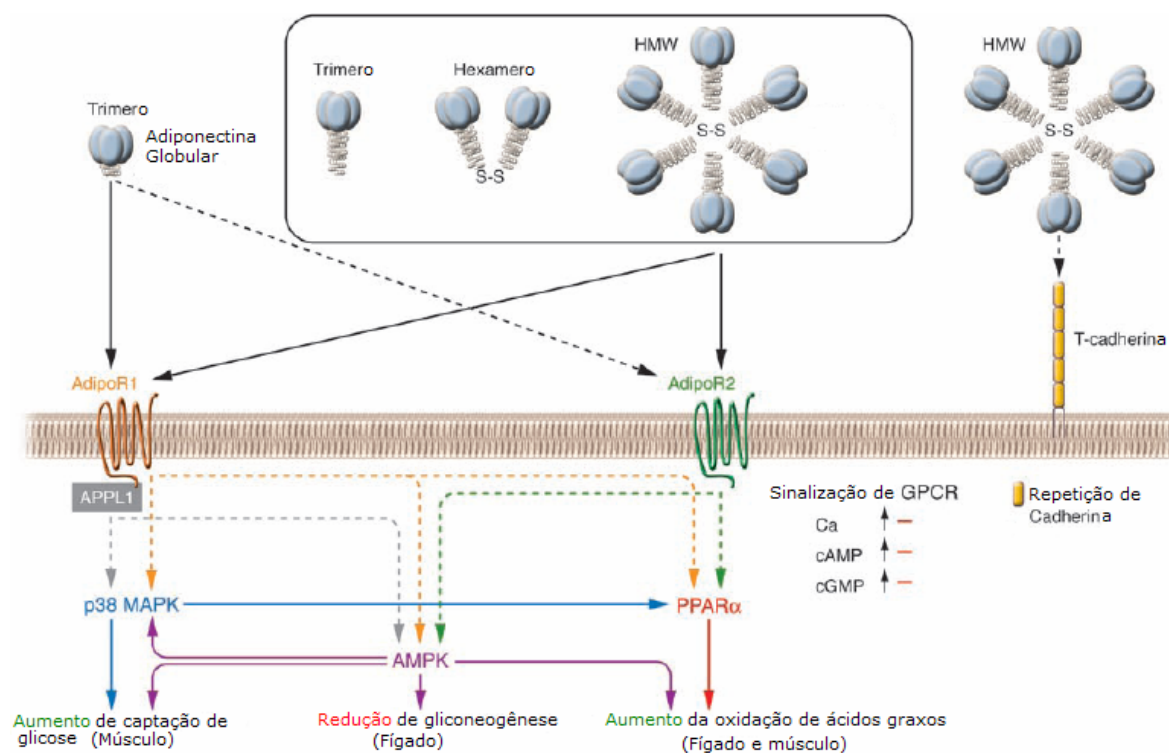


Figura 15: Transdução de sinal dos receptores de adiponectina. Esses receptores ativam moléculas sinalizadoras como PPAR α , AMPK e p38 MAPK. A adiponectina também pode se ligar a caderina, que não é capaz de ativar nenhuma via de sinalização. Retirado e modificado de Kadowaki e colaboradores²⁴⁷.

1.2.2.3. Efeitos

Os principais órgãos alvos da adiponectina são o fígado e o tecido muscular²¹². A capacidade da adiponectina de aumentar a sensibilidade à insulina está relacionada a diversos efeitos descritos para a adiponectina. A administração de adiponectina a roedores mostrou aumento na fosforilação de tirosina induzida por insulina no receptor de insulina em músculo esquelético, associado com aumento da sensibilidade à insulina¹³. A estimulação da utilização de glicose e diminuição do conteúdo de triglicerídeos em músculo esquelético induzida pela adiponectina ocorre pelo aumento da expressão de moléculas envolvidas na oxidação de ácidos graxos e dissipação de energia¹³. A administração de adiponectina globular a células de músculo esquelético de rato aumenta a quantidade do transportador de glicose GLUT4 na membrana da célula²⁵¹. Quando a adiponectina foi adicionada ao meio de incubação juntamente com insulina, o efeito foi ainda maior²⁵¹. No fígado, a administração de adiponectina suprime o influxo de ácidos graxos e diminui a gliconeogênese²⁵². Estudos investigaram a bioatividade dos oligômeros inteiros contra oligômeros que continham apenas o domínio globular. O fragmento sozinho se mostrou mais potente que o oligômero inteiro em melhorar a hiperglicemia e hiperinsulinemia em camundongos obesos que em camundongos com peso normal¹³.

Além disso, já foi sugerido que a adiponectina também atue diretamente no cérebro, aumentando o gasto energético sem diminuir a ingestão alimentar, causando perda de peso¹⁰. Apesar de um estudo ter mostrado que a adiponectina não foi encontrada no líquido cerebrospinal de humanos e que

não há passagem desta do sangue para o líquido cerebrospinal²⁵³, dois grupos demonstraram a presença de adiponectina no líquido cerebrospinal em roedores, na forma trimérica e MMW^{10,254,255}. Existem receptores expressos no hipotálamo²⁴³. Regiões do cérebro que não possuem barreira hematoencefálica, como o núcleo arqueado e a área postrema, respondem à adiponectina, indicando que essas células poderiam sinalizar para outras regiões do cérebro^{256,257}. Foi demonstrado que a adiponectina estimula a ingestão alimentar via AdipoR1 no núcleo arqueado, ativando AMPK nesses neurônios²⁵⁶.

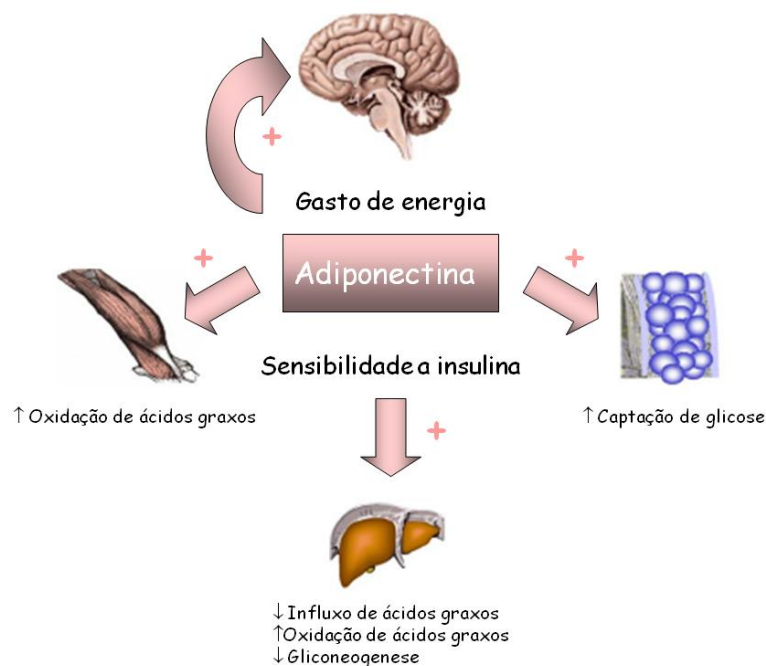


Figura 16: Modelo hipotético da ação da adiponectina.

Existe uma forte correlação positiva entre adiponectina e sensibilidade à insulina^{13,222,228,252,254,258}. Estudos mostraram que a adiponectina diminui a glicemia em animais normais e em diferentes modelos de obesidade/diabetes

mellitus^{13,258}. Todas as relações entre a adiponectina e a ação da insulina são independentes da quantidade de gordura do corpo²²². Como a insulina plasmática se mantém inalterada²⁵⁸, o efeito hipoglicêmico da adiponectina não é associado com estímulo da secreção de insulina, mas sim com o aumento da sensibilidade à insulina. Não se sabe qual o mecanismo pelo qual isso acontece, mas quatro diferentes mecanismos são possíveis: 1) Aumento da oxidação de lipídios, que estão aumentados em pacientes com resistência à insulina; 2) melhora direta na sinalização da insulina, no receptor ou na sinalização intracelular; 3) inibição da gliconeogênese, uma vez que a adiponectina reduz a expressão das enzimas envolvidas com esse processo no fígado²⁵² e 4) inibição da sinalização do TNF- α no tecido adiposo branco, que foi relacionado com resistência à insulina²⁵⁹.

Em humanos, uma concentração sérica baixa de adiponectina coloca o indivíduo no grupo de risco para desenvolvimento de diabetes mellitus do tipo 2²⁶⁰. Foi recentemente proposto que a razão leptina/adiponectina seria um parâmetro mais sensível para resistência à insulina que a avaliação modelo da homeostase (HOMA-R), que é o índice mais utilizado. Foi verificado que a razão leptina/adiponectina se correlaciona melhor com o índice de massa corporal, concentração de triglicerídeos, HDL e LDL que o índice de HOMA-R²⁶¹.

Ao se estudar genes relacionados com Síndrome Metabólica, um dos locais encontrados que possuía relação com resistência à insulina e diabetes tipo 2 foi o locus 3q27 do cromossoma humano, local onde se situa o gene da adiponectina^{262,263}. De acordo com Kondo e colaboradores²⁶⁴, esta descoberta sugere que a redução da função da adiponectina provavelmente possui relação

com o desenvolvimento de resistência à insulina e diabetes tipo 2. Em seu estudo, Kadowaki e colaboradores²⁴⁷ propuseram a hipótese de que o desenvolvimento de resistência à insulina, diabetes tipo 2 e Síndrome Metabólica está relacionado à redução nas concentrações plasmáticas de adiponectina causada pela interação entre fatores genéticos (como polimorfismos no próprio gene da adiponectina) e fatores ambientais que causam obesidade (como o sedentarismo). Em concordância, em seres humanos, casos de mutações do gene da adiponectina estão relacionados com a ocorrência de diabetes tipo II, além de hipoadiponectinemia^{204,264,265,266}.

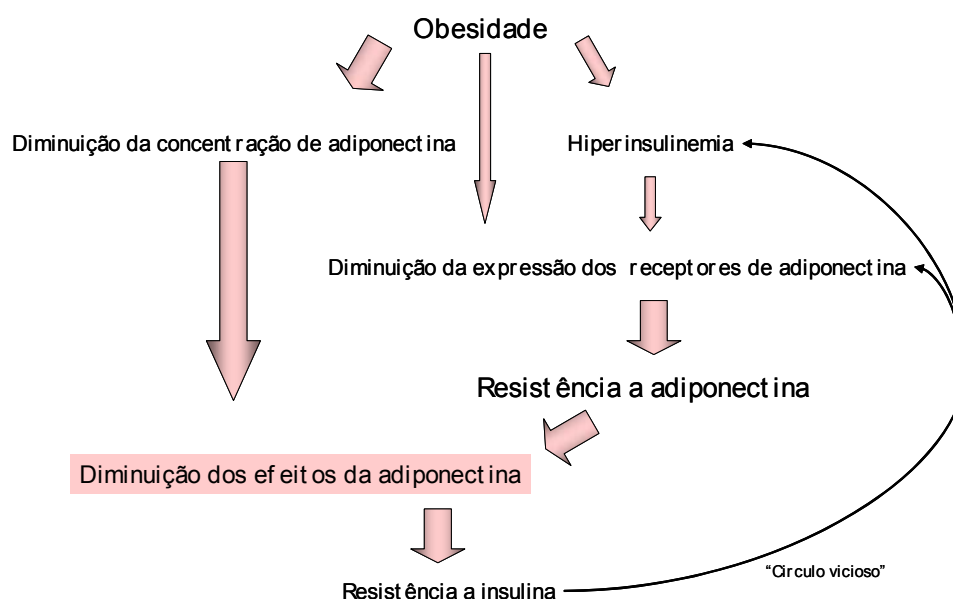


Figura 17: Modelo hipotético de como a resistência à insulina ocorre no indivíduo obeso.

A administração de adiponectina a camundongos alimentados com dieta com grandes concentrações de açúcares e de gorduras levou a perda de peso sem diminuir a ingestão, um efeito possivelmente associado com o aumento da

oxidação de gordura no músculo⁷. Outras dietas, ricas em proteína de soja²⁶⁷, ácido linoléico²⁶⁸ e óleos de peixe²⁶⁹ aumentam a concentração plasmática de adiponectina, o que é consistente com o fato de que essas substâncias são conhecidas como fatores protetores contra o desenvolvimento de diabetes.

Estudos em camundongos geneticamente alterados são pouco conclusivos. Ma e colaboradores²⁷⁰ demonstraram que animais *knock-out* para adiponectina possuem concentrações similares aos normais de glicose plasmática e insulina e que os testes de glicose e tolerância à insulina são idênticos em ambos os grupos²⁷⁰. Camundongos *knock-out* para adiponectina se tornam resistentes à insulina com seis semanas de idade e são intolerantes à glicose, enquanto animais heterozigotos apresentam apenas resistência leve à insulina²⁵⁴. Em outro estudo, foi demonstrado que animais *knock-out* apresentam depuração diminuída de ácidos graxos do plasma e concentrações baixas de mRNA de proteína transportadora de ácidos graxos no músculo, mas os animais não apresentaram resistência à insulina¹⁴. Esses resultados demonstram que a adiponectina pode estar relacionada com a regulação de glicose e ácidos graxos.

Já em camundongos transgênicos cuja mutação ocasionou aumento na expressão do mRNA da adiponectina, ocorreu redução da glicemia. A diminuição da glicose plasmática observada nestes animais e também em casos de administração sistêmica de adiponectina parece ter ocorrido em decorrência da supressão da produção de glicose pelo fígado e do aumento da oxidação de lipídios^{2,271}. Em estudo de Satoh e colaboradores²⁴⁴, ratos que apresentaram hiperadiponectinemia causada por injeções de construções de adenovírus e conseqüente hiperexpressão hepática de adiponectina,

apresentaram, na musculatura esquelética, aumento da sensibilidade à insulina observada através de testes de tolerância à glicose e à insulina. Entretanto, o efeito da insulina na supressão da produção hepática de glicose não ocorreu, sugerindo que os altos níveis de expressão do mRNA da adiponectina no fígado podem ter ocasionado um quadro de dessensibilização local à própria adiponectina. Neste mesmo estudo, observou-se aumento da ativação da AMPK no músculo esquelético, mas não no tecido hepático, o que confirmaria a questão da dessensibilização hepática à adiponectina²⁴⁴. Camundongos *knock-out* para AdipoR1 apresentaram resistência à insulina e intolerância a glicose. Os camundongos *knock-out* para AdipoR2 apresentaram fenótipo mais brando que dos animais AdipoR1 *knock-out*, enquanto os animais duplo *knock-out* apresentaram um fenótipo mais agressivo²⁵⁰.

Vários estudos mostram que a adiponectina protege contra o desenvolvimento de arteriosclerose (espessamento e endurecimento da parede arterial). A Inflamação é um fator importante para o começo e desenvolvimento de arteriosclerose. As mudanças da arteriosclerose consistem dos três seguintes fenômenos: adesão de monócitos às células endoteliais pela expressão de moléculas de adesão, captação de LDL oxidado por macrófagos através de receptores *scavenger* e proliferação de células migratórias de músculo liso, pela ação de fatores de crescimento derivados de plaqueta ou fator de crescimento similar ao fator de crescimento endotelial ligador de heparina. Estudos *in vitro* mostram que os efeitos protetores da adiponectina vêm de sua capacidade de regular negativamente os fatores de adesão vascular em células endoteliais²⁷², de inibir a expressão de receptores *scavenger*²⁷³ e de inibir a proliferação e migração de células de músculo liso²⁷⁴.

A adiponectina sérica encontra-se freqüentemente reduzida em indivíduos com doença cardiovascular²¹⁴. O acompanhamento de pacientes com insuficiência renal durante alguns anos revelou que houve maior índice de mortes por doença cardiovascular dentre os indivíduos que apresentavam níveis mais baixos de adiponectina²⁷⁵. Além disso, em humanos, uma concentração sérica baixa de adiponectina coloca o indivíduo no grupo de risco para ter um infarto do miocárdio²⁷⁶.

A relação existente entre obesidade e hipoadiponectinemia levou diversos autores a sugerirem a possibilidade, no futuro, da utilização deste hormônio no tratamento de indivíduos obesos, com o objetivo de melhoria da resistência à insulina e da aterosclerose²⁷⁷. De acordo com Havel²⁷⁸, o tratamento com adiponectina provavelmente também será útil no controle de outros distúrbios metabólicos tais como esteatose hepática e dislipidemia.

1.3. INTERAÇÕES ENTRE HORMÔNIOS TIREOIDEANOS E LEPTINA E ADIPONECTINA

Os hormônios tireoideanos agem aumentando a taxa metabólica e o consumo de oxigênio, regulando a produção de calor e o suprimento de energia²¹. A leptina é um hormônio que atua sobre o sistema nervoso central, atua como um anorexígeno e aumenta o metabolismo energético⁴. A adiponectina está envolvida com importantes efeitos metabólicos, tais como, estimulação da oxidação de ácidos graxos, redução da gliconeogênese e

aumento da termogênese^{7,8,9,10}. Portanto, os papéis biológicos dos HTs, da leptina e da adiponectina se entrecruzam na regulação do gasto energético.

Apesar da função tireoideana ser normal na população obesa, é conhecido que o TSH e o IMC se correlacionam de forma positiva²⁷⁹. Além disso, o acúmulo central de gordura é associada com aumento paralelo de TSH e T3 livre²⁸⁰.

Além disso, existe a possibilidade da interferência direta do estado tireoideano sobre a produção de adipocitocinas no tecido adiposo, uma vez que este possui todos os receptores de hormônios tireoideanos, sendo TRα1 a isoforma predominante, e também de receptores de TSH^{281,282,283,284}. Viguerie e colaboradores²⁸⁵ mostraram por microarray que 19 genes do tecido adiposo branco de seres humanos são regulados por hormônios tireoideanos. Esses genes davam origem a proteínas envolvidas na transdução de sinais, metabolismo de lipídios, apoptose e respostas inflamatórias²⁸⁵. Os HTs inibem a proliferação e estimulam a diferenciação do adipócito^{18,19}, regulam o metabolismo de lipídeos - pela regulação positiva da expressão de enzimas lipolíticas -, aumentam o consumo de oxigênio e modulam a sensibilidade do tecido a outros hormônios²⁰. Os HTs modificam a resposta do tecido adiposo a catecolaminas e insulina e, dessa maneira, regulam a via lipolítica positivamente²⁸⁵.

A relação entre leptina e hormônios tireoideanos tem sido investigada. A leptina atua modulando a secreção do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide. A leptina foi correlacionada à produção e liberação de TRH e, conseqüentemente, de TSH e HTs. Ratos mantidos em jejum têm a leptina

sérica diminuída, assim como os HTs e o TSH. Os mRNA para a subunidade beta do TSH e do pró-TRH também diminuem. A administração de leptina reduz a queda de T4 sérico e restaura o T3, o TRH e o TSH séricos e o mRNA para pró-TRH^{138,286,287,288,289}. Portanto, a leptina parece estimular o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, atuando direta e indiretamente sobre os neurônios produtores de TRH. Entretanto, também foi descrita atuação direta na adenohipófise de ratos, que ao contrário da ação hipotalâmica, parece ser inibitória²⁹⁰. Essa inibição é modulada por HTs e se mantém em animais com hipertireoidismo leve, mas desaparece em animais hipotireoideos²⁹¹. Além disto, a leptina parece ter atuação na hipófise como um fator produzido localmente, já que o peptídeo e seu mRNA^{163,292} foram detectados na glândula. O efeito parácrino/autócrino da leptina seria inibitório, como evidenciado pela incubação de adenohipófises murinas com anticorpo anti-leptina²⁹⁰. Essa ação, como inibidor local da liberação de TSH, está aumentada no hipertireoidismo e desaparece no hipotireoidismo²⁹¹. Ainda assim, o efeito estimulatório da leptina sobre a liberação de TSH parece ser fisiologicamente predominante *in vivo*. Na tireóide, a leptina atua estimulando o crescimento e secreção da tireóide por ação direta¹⁶⁴. Já em células FRTL-5, a leptina inibe o efeito estimulatório do TSH²⁹³.

O efeito da leptina sobre o eixo tireoideano também ocorre de forma indireta: ela causa inibição do NPY hipotalâmico²⁹⁴ que, por sua vez, apresentaria efeito inibitório sobre neurônios secretores de TRH^{295,296}. Outro hormônio hipotalâmico, o α -MSH, que possui a capacidade de ativar o promotor do gene do TRH²⁸⁹, tem sua secreção estimulada pela leptina²⁹⁷.

Em estudo envolvendo homens saudáveis e membros de uma família com deficiência genética de leptina, os autores observaram que o ritmo circadiano do TSH do paciente homozigoto era desorganizado, enquanto que nos indivíduos heterozigotos havia correlação entre ritmo circadiano de leptina e de TSH que era, entretanto, muito inferior à forte correlação observada nos indivíduos normais²⁹⁸.

A conversão de T4 para T3 realizada pelas desidases é necessária para que os hormônios tireoideanos desempenhem suas ações biológicas; e a leptina exerce influência sobre tais enzimas de forma direta e indireta^{299,300}, atuando de forma tecido e isoforma-específica³⁰⁰. Em alguns estudos ela causou aumento da atividade da D1 na tireóide, no fígado²⁹⁹ e na hipófise³⁰⁰; sendo que, quanto à D2, foi relatado efeitos de aumento da atividade no TAM³⁰¹; além da redução de sua atividade no hipotálamo³⁰⁰.

As pesquisas que avaliam a influência da função tireoideana sobre a leptina apresentam resultados contraditórios. O hipertireoidismo geralmente é acompanhado de redução da massa de tecido adiposo, enquanto em indivíduos hipotireoideos freqüentemente se observa aumento da gordura corporal^{16,17}. Uma série de autores afirma que a concentração sangüínea de leptina não apresenta alterações significativas em função de variações do estado tireoideano de seres humanos^{302,303,304,305,306}. Entretanto, outros pesquisadores demonstraram a ocorrência de níveis de leptina baixos^{307,308,309} ou ligeiramente aumentados³¹⁰ em pacientes hipertireoideos.

Com relação ao hipotireoidismo, há também muita divergência: apesar de alguns autores demonstrarem o aumento da concentração de leptina em

seus pacientes^{305,307}; outros relatam que os hipotireoideos apresentam níveis reduzidos de leptina³¹¹ que, posteriormente, podem elevar-se em função da reposição com hormônio tireoideano^{304,309,312}. Alguns pesquisadores afirmam, ainda, que no hipotireoidismo não há alteração da leptina^{302,303}.

Em ratos, a administração de hormônios tireoideanos a animais tireoidectomizados causou diminuição da secreção de leptina⁶. Em animais, o hipertireoidismo aumentou a ingestão calórica e diminuiu a concentração de leptina, enquanto o hipotireoidismo experimental diminuiu a ingestão alimentar e aumentou a concentração de leptina^{313,314}. Também foi demonstrado que o T3 inibiu a secreção de leptina em adipócitos de tecido adiposo branco e marrom em cultura³¹⁵. Fain e Bahouth³¹⁶ demonstraram que em adipócitos em cultura, T3 e dexametasona diminuem a expressão de mRNA de leptina, entretanto, quando insulina é adicionada, ocorre não mais diminuição, mas aumento da expressão de mRNA de leptina³¹⁶. Além dos efeitos dos HTs, o TSH também estimula a secreção de leptina em explantes de tecido adiposo humano³¹⁷.

No que concerne a adiponectina, alguns estudos sugerem que a função tireoideana exerce influência sobre seus níveis séricos. Alguns autores relatam que a concentração desta adipocitocina apresentou-se mais elevada no hipertireoidismo, em relação ao eutireoidismo e ao hipotireoidismo^{284,318}. Foi demonstrada, em estudo em humanos, a diminuição de adiponectina em pacientes na fase de hipotireoidismo, em comparação com a fase pré-tratamento hipertireóidea³¹⁸.

Em seu estudo, Fernández-Real e colaboradores²³⁹ relataram que indivíduos normais que se enquadravam dentro do grupo que apresentava maior quartil de adiponectina sérica apresentavam níveis séricos de T4 livre maiores em comparação com os outros grupos. Entretanto, Nagasaki e colaboradores²⁴¹ realizaram o monitoramento de pacientes inicialmente hipotireoideos, ao longo de um ano, quando se tornaram eutireoideos pela normalização da função tireoideana decorrente da reposição hormonal. Nestes indivíduos, não foram observadas alterações significativas nas concentrações séricas de adiponectina. Além disso, em pacientes hipo- e hipertireoideos, Iglesias e colaboradores³⁰⁹ não observaram alterações significativas nos níveis séricos de adiponectina em função da variação do estado tireoideano, o que levou os autores a sugerirem que os hormônios tireoideanos apresentam pouca importância na modulação dos níveis de adiponectina no organismo. Este mesmo resultado foi obtido por Santini e colaboradores¹⁰⁰.

Alguns autores verificaram uma correlação positiva entre a concentração de adiponectina e a concentração de T4 e T3 livre^{230,284,318} enquanto outros autores não encontraram nenhuma correlação^{241,309}. Em estudo com pacientes que apresentavam insuficiência renal crônica, foi observado correlação negativa entre adiponectina e T3 livre³¹⁹.

Em ratos, em estudo de Aragão e colaboradores³²⁰, a concentração de adiponectina estava aumentada em animais hipertireoideos, mas não apresentava alterações nos animais hipotireoideos. Já em estudo de Kokkinos e colaboradores³¹⁴, os animais hipotireoideos apresentavam concentrações elevadas de hormônios tireoideanos, enquanto os animais hipertireoideos não apresentaram mudanças.

Em cultura de tecido adiposo marrom de camundongos, observou-se aumento na secreção e na expressão da adiponectina, após tratamento com T4³²¹. Entretanto, em estudo *in vitro*, realizado com linhagem celular de adipócitos 3T3-L1, não houve alteração significativa da expressão do mRNA da adiponectina em função da administração de T3²³¹.

Visto o descrito acima, ainda existe muita controvérsia sobre os efeitos dos hormônios tireoideanos sobre a expressão de adipocitocinas e os mecanismos envolvidos. Estes podem ser indiretos ou diretos nas células adiposas e pode envolver síntese e/ou secreção de adiponectina. Estas hipóteses serão investigadas no presente projeto.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Avaliar a regulação da síntese e secreção de adiponectina e da secreção de leptina no tecido adiposo branco pelos hormônios tireoideanos, em estudos *in vivo* e *in vitro*.

2.2. ESPECÍFICOS

Investigar um efeito direto dos hormônios tireoideanos sobre a secreção de adiponectina e a expressão de seu mRNA em explantes de tecido adiposo murino.

Investigar um efeito direto dos hormônios tireoideanos sobre a secreção de leptina em explantes de tecido adiposo murino.

Avaliar diferenças na expressão de mRNA de adiponectina em tecido adiposo de animais normais, hipo- e hipertireoideos

Avaliar diferenças na secreção e expressão de mRNA de adiponectina em explantes de tecido adiposo de animais normais, hipo- e hipertireoideos em cultura

Avaliar diferenças na secreção de leptina em explantes de tecido adiposo de animais normais, hipo- e hipertireoideos em cultura

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. DESENHO EXPERIMENTAL I

Avaliação do efeito de hormônio tireoideano na secreção de leptina e na secreção e expressão de mRNA de adiponectina em explantes de tecido adiposo de animais normais. Utilizaremos outros conhecidos reguladores da secreção de adiponectina e leptina para efeitos comparativos e de controle das respostas dos explantes.

3.2. DESENHO EXPERIMENTAL II

Avaliar o efeito da indução do hipo- e hipertireoidismo sobre a concentração sérica de adiponectina e leptina e a expressão do mRNA de adiponectina em tecido adiposo de ratos e como se comportam explantes de tecido adiposo destes animais hipo- e hipertireoideos quanto à secreção de adiponectina e leptina e quanto a expressão do mRNA para adiponectina.

3.2.1. Tratamento dos animais

Utilizamos ratos da linhagem Wistar adultos de aproximadamente 300g, mantidos sob condições controladas de temperatura ($\pm 24^{\circ}\text{C}$) e ciclo claro e escuro (12/12h). Água e ração comercial (Purina) foram fornecidas ad libitum.

3.2.2. Procedimentos experimentais

Os animais foram divididos em 3 grupos com 5 animais cada: um grupo hipotireoideo que recebeu metimazol (Sigma, MO, EUA) na concentração de 0,03% na água de beber por 21 dias e um grupo hipertireoideo que recebeu injeções de T4 (Sigma) na concentração de $50\mu\text{g}/100\text{g PC}$, sc., diariamente por 15 dias. Um grupo eutireoideo foi sacrificado em paralelo para servir como controle do tratamento de hipo- e hipertireodismo. O procedimento foi repetido 5 vezes.

Todos os animais foram sacrificados no período da manhã, entre 10 e 12 horas. O sacrifício foi feito por decapitação. Coletamos o sangue do tronco dos animais, o qual foi centrifugado a $1773 \times g$, 4°C por 15 minutos, para a obtenção do soro, que foi armazenado a -20°C para posterior dosagem hormonal. Foram coletados também os TAB inguinal (subcutâneo) e epididimal (visceral) e o TAM para pesagem, posterior extração de mRNA e morfometria. Também foram retiradas amostras de tecido adiposo branco para realização de explantes teciduais como descrito abaixo.

Este protocolo foi aprovado pela Comissão Avaliação do Uso Animais em Pesquisa do IBCCF/UFRJ, protocolo nº 058-03-2007.

3.3. EXPLANTES DE TECIDO ADIPOSEO

Os animais foram sacrificados e os tecidos adiposos brancos inguinal e epididimal foram retirados. 50mg de tecido foi pesado, picotado em aproximadamente 5 fatias e colocado em 500 µL de meio DMEM (Gibco, USA) pH 7,4 com 10% de soro fetal bovino tratado livre de iodotironinas e 1% de *antibiotic-antimycotic* (Invitrogen, EUA), contendo 10.000 unidades de penicilina, 10.000 µg de streptomina e 25 µg de amfotericina B. O soro bovino, antes de ser utilizado, foi tratado com resina de troca aniônica AG 1X8, que retira os hormônios tireoideanos, como descrito por Samuels e colaboradores³²². Essas fatias ficaram incubados por 30 minutos a 37°C em incubadora de CO₂. Após a incubação, o meio foi trocado por meio basal ou meio contendo T3 ou rosiglitazona ou insulina ou dexametasona nas concentrações descritas em cada experimento e mantido por 4 ou 24 ou 48 horas a 37°C em incubadora de CO₂. Ao término da incubação, o meio foi retirado para dosagem de leptina e adiponectina e o tecido foi processado para a quantificação do mRNA de adiponectina. A viabilidade foi testada por análise histológica do tecido com coloração em hematoxilina-eosina.

3.4. HISTOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO

Os tecidos adiposos foram retirados e colocados em formol tamponado com PBS 0,025M onde ficaram acondicionados por 72 horas. Após esse tempo, o tecido foi colocado em cassetes numerados e desidratados em

banhos crescentes de etanol (Vetec, BR) em estufa a 50°C. No último banho, o tecido é mantido em etanol 100% por 10 a 12 horas. No dia seguinte o tecido é colocado em banhos de xilol (Vetec, BR) e, sucessivamente, em banhos de parafina (Vetec, BR). Ao final, o tecido é incluído em um bloco de parafina. Uma vez endurecido, o bloco é cortado em fatias de 5 micrometros que são colocadas em lâminas de vidro em cortes seriados com distância de 100 micrometros para cada lâmina.

Após secagem completa das lâminas, elas são colocadas na estufa por no mínimo 20 minutos, para que a parafina derreta. A completa retirada da parafina ocorre após banhos de xilol e o tecido é hidratado com banhos decrescentes de etanol. O tecido é corado com Hematoxilina de Harris, lavado com água, corado com Eosina e lavado com água. Os cortes são então desidratados com banhos de etanol e clarificados com banhos de xilol. A lamínula é afixada na lâmina com *entellan* e após 3 dias de secagem, o tecido é fotografado em microscópio de campo claro com objetiva de 20X.

3.5. MORFOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO

O tecido foi fixado e processado como descrito para a análise histológica. As fotos têm a sua morfometria avaliada usando o programa IMAGE J (<http://rsb.info.nih.gov/ij>). Cada animais deu origem a 3 lâminas, com 4 cortes em cada. Cada corte deu origem a um campo de análise. De cada campo, foram escolhidos de forma aleatória 8 adipócitos, os quais tiveram a sua área e perímetro avaliada.

3.6. DOSAGENS HORMONAIS

3.6.1. Radioimunoensaio (RIE) de Adiponectina

A quantificação da adiponectina foi realizada com kit obtido comercialmente da Linco Research (EUA), seguindo o protocolo e recomendações do fabricante. Para a dosagem utilizamos 50 μ L de soro ou meio de incubação para cada duplicata, sendo estes diluídos 1:500 e 1:50 respectivamente. A amostra, juntamente com tampão, adiponectina marcada radioativamente e anticorpo contra adiponectina fornecidos pelo kit foram incubados por 24 horas. Após a incubação, foi adicionado um reagente precipitante com nova incubação de 20 minutos a 4°C. Os tubos foram centrifugados por 30 minutos a 1773 *xg* e a radioatividade do precipitado foi medida em um cintilador de fase sólida (CompuGama, LKB, WALLAK). Os valores séricos da adiponectina foram expressos em ng/mL. O limite de detecção é de 0.78 ng/mL.

3.6.2. RIE de Leptina

A quantificação da leptina foi realizada com kit obtido comercialmente da Linco Research (EUA), seguindo o protocolo e recomendações do fabricante. Para a dosagem utilizamos 50 μ L de soro ou meio de incubação para cada

duplicata. A amostra, juntamente com tampão, e anticorpo contra leptina fornecidos pelo kit foram incubados por 24 horas. Ao termino, foi adicionado, aos tubos, leptina marcada radioativamente e estes foram incubados por 24 horas. Após a incubação, foi adicionado um reagente precipitante com nova incubação de 20 minutos à 4°C. Os tubos foram centrifugados por 30 minutos a 1773 *xg* e a radioatividade do precipitado foi medida em um cintilador de fase sólida (CompuGama, LKB, WALLAK). Os valores séricos de leptina foram expressos em ng/mL. O limite de detecção é de 0.5 ng/mL.

3.6.3. RIE de TSH

Para o ensaio do TSH foi utilizado TSH murino para marcação com ¹²⁵I, TSH murino para a curva padrão e um anticorpo produzido em coelho específico contra o TSH murino (primeiro anticorpo), estes fornecidos pelo National Pituitary Hormone Program (NPHP - Bethesda, EUA). A iodação do TSH com ¹²⁵I foi feita em nosso laboratório, pelo método da cloramina T (Sigma) e a molécula marcada foi purificada em uma coluna de gel de poliacrilamida P60 fino (Bio-rad, EUA).

O ensaio foi realizado em tampão fosfato em salina, pH 7,0 contendo BSA 0,25%, e constitui-se de incubação de 2 horas da amostra ou padrão com o primeiro anticorpo (diluição final 1:1.500), em seguida adiciona-se TSH marcado radioativamente, totalizando 10.000 cpm/tubo. Após 21 horas de incubação à temperatura ambiente, adiciona-se o segundo anticorpo (Sigma - anticorpo produzido em cabra contra imunoglobulina de coelho, diluição final

1:75) juntamente com polietilenoglicol (Quimibras), para separação dos complexos formados. Após 3 horas de incubação à temperatura ambiente, a solução foi centrifugada a 1773 *xg* por 30 minutos a 4°C. O sobrenadante foi desprezado e a radioatividade do precipitado foi medida em um cintilador de fase sólida (CompuGama, LKB, WALLAK) Os valores séricos do TSH foram expressos em ng/mL. O limite de detecção do ensaio é de 0,36 ng/mL.

3.6.4. RIE de T3 e T4 total

A quantificação dos HTs foi realizada com kit obtido comercialmente da ICN Pharmaceuticals (CA, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. Este kit é baseado no método de fase sólida, no qual o anticorpo específico encontra-se aderido à parede do tubo. Para a dosagem de T3 utilizaremos 100µL de soro e para a dosagem de T4, 25µL para cada duplicata. As amostras são incubadas juntamente com a molécula marcada radioativamente e incubadas por 1 hora. O tubo é lavado com água destilada e a radioatividade do precipitado foi medida em um cintilador de fase sólida (CompuGama, LKB, WALLAK). O limite de detecção para T4 é de 2 µg/dL e para T3 é de 50 ng/dL.

3.7. QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO DE mRNA DE ADIPONECTINA

3.7.1. Extração de RNA

Os tecidos adiposos brancos inguinal e epididimal (70mg cada tecido ou 50mg de cada explante) foram processados utilizando o kit RNeasy® Lipid tissue (Qiagen, USA), de acordo com as especificações do protocolo do fabricante. As amostras foram homogeneizadas com QIAzol® Lysis reagent usando um processador ultra-turrax. Ao homogenato foi adicionado clorofórmio (Sigma, USA) e este foi centrifugado a 12.000 x g por 15 minutos. O sobrenadante, então, foi retirado para outro tubo contendo etanol 70% (Sigma, USA), sendo em seguida transferido para uma coluna RNeasy e centrifugado por 15 segundos a 8.000 xg. Após a centrifugação, a coluna foi lavada sucessivamente com tampões fornecidos no kit. Ao final, foi adicionada água RNase-free à coluna e após centrifugação por 1 minuto a 8.000 x g, o RNA se encontrava no eluato. O RNA obtido ao final do procedimento foi quantificado em espectrofotômetro, medindo a absorbância a 260 e 280nm e calculando com esses valores a concentração. A integridade foi checada por visualização do RNA ribossomal em gel de agarose. O RNA integro foi armazenado para a posterior obtenção de cDNA.

3.7.2. Transcrição Reversa

A transcrição reversa do mRNA para obtenção do cDNA foi realizada utilizando a enzima Superscript II ou III (Invitrogen, USA) e oligo-dT (Promega, USA) usando o protocolo fornecido pelo fabricante. 1µg de RNA foi incubados com oligo-dT (iniciador da reação), dNTPs (10mM de cada -dATP, dCTP, dGTP, dTTP – Promega, USA) e água a 65°C por 5 minutos em termociclador.

Foram acrescentados tampão *first strand* e DTT, fornecidos pelo kit, e a enzima, incubando novamente a 42°C por 50 minutos. A reação foi terminada incubando a 70°C por 15 minutos. O cDNA obtido foi armazenado até a sua utilização.

3.7.3. PCR em Tempo Real (Real-Time PCR)

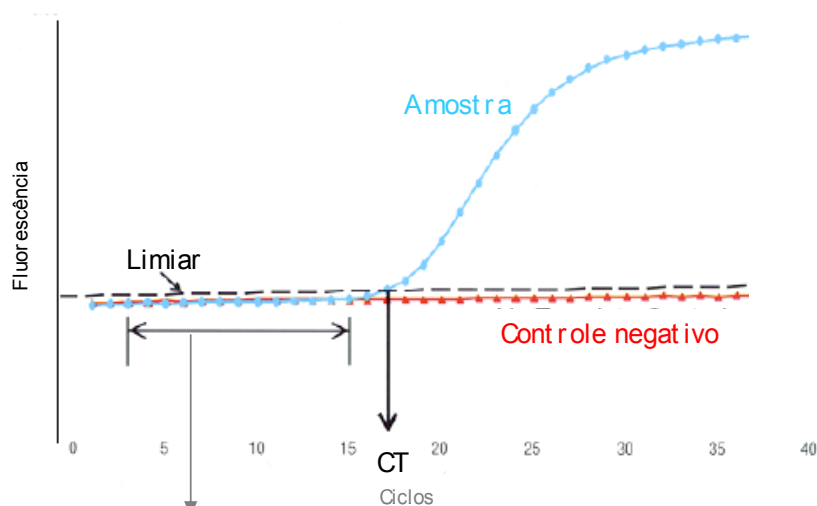
O cDNA foi adicionado a uma placa de reação junto com uma mistura contendo os iniciadores específicos e tampão iQ SYBR Green Supermix® (Bio-Rad, Califórnia, USA), que contem 100 mM KCl, 40 mM Tris-HCl, pH 8,4, 0,4 mM de cada dNTP, 50 U/mL iTaq DNA polimerase, 6 mM MgCl₂, SYBR Green I e 20 nM fluoresceína. As amostras foram analisadas em duplicata. A quantificação da adiponectina em relação ao gene controle 36B4 foi realizada na 7500 Real-Time PCR system (Applied Biosystems, Califórnia, USA), que detecta mudanças na concentração das amostras por fluorescência. Após uma desnaturação à 50°C por 2 minutos e 95°C por 10 minutos, a reação será repetida por 44 ciclos de 95°C por 15 segundos, 53°C por 30 segundos e 70°C por 45 segundos.

Os seguintes iniciadores foram usados: adiponectina direto 5'- CAA GGG AAC TTG TGC AGG, adiponectina reverso 5'- CAC CCT TAG GAC CAA GAA G, 36B4 direto 5'- 5'- CCG AGG CAA CAG TTG GGT A e 36B4 reverso 5'- TGT TTG ACA ACG GCA GCA TTT.

O sistema é baseado na detecção dos produtos de amplificação pelo corante, que se intercala em DNA fita dupla. O corante SYBR Green começa a

emitir fluorescência assim que se liga ao DNA. Quanto mais corante ligado ao DNA, maior será a emissão de fluorescência, assim é possível acompanhar o crescimento exponencial de DNA na amostra. A medição da fluorescência é feita pelo aparelho de Real-time PCR a 520 nm.

A padronização foi realizada quantificando diferentes diluições de cDNA da adiponectina e do 36B4. No PCR em tempo real a quantidade de fluorescência aumenta de forma exponencial com o aumento de DNA produzido. Nessa exponencial uma linha limiar é traçada, que será usada para calcular o CT (cycle threshold) de cada amostra, ou seja, o ciclo de PCR no qual a fluorescência cruza a linha de base (Figura 18). O valor de CT será proporcional à quantidade inicial de amostra na reação (quanto maior a concentração do DNA de estudo, menor será o valor de CT). As diluições testadas foram 1:2, 1:4, 1:8 e 1:16 (Figura 19). Quanto maior foi a diluição utilizada, menor foi o número de ciclos necessários para alcançar a linha de base. A diluição escolhida foi de 1:8.



Fase onde o produto amplificado não ultrapassa a intensidade da fluorescência encontrada no meio.

Figura 18: Curva representativa mostrando a amplificação de uma amostra e a principal nomenclatura adotada.

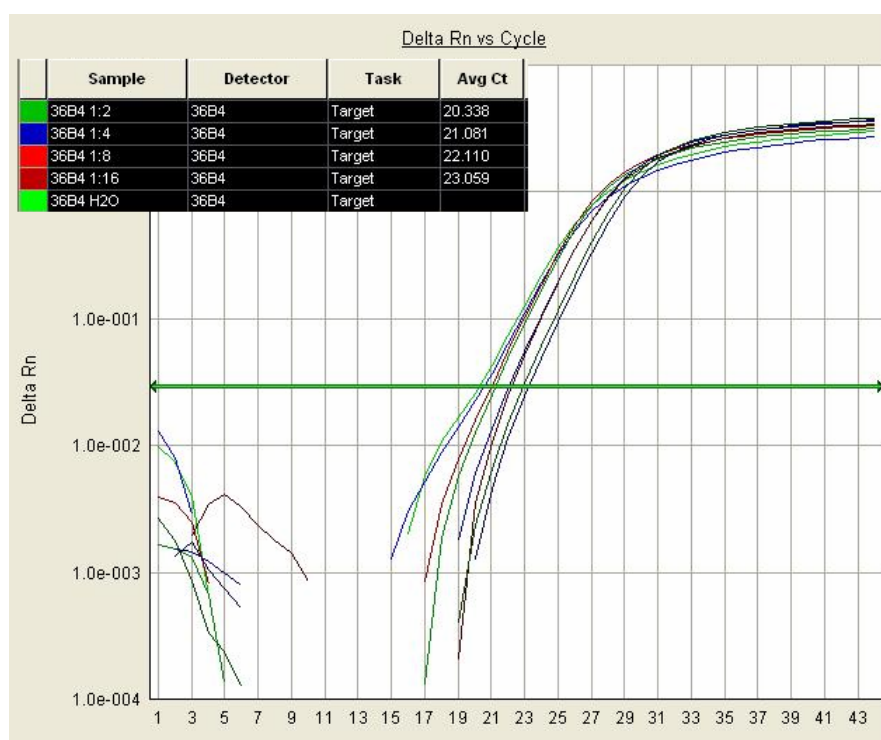


Figura 19: Curva mostrando a padronização da concentração de cDNA utilizado. Foram utilizadas as concentrações de cDNA de 1:2, 1:4, 1:8 e 1:16. O primeiro demonstrado na figura foi o 36B4.

A quantidade de RNA utilizado para a produção de cDNA não é completamente confiável, pois a qualidade do RNA pode ser diferente ou mesmo a sua quantificação pode ter sido inexata. Para tanto, utilizamos um controle interno, ou seja, um gene que não altera sua produção nas diferentes manipulações do estudo. Assim, normalizando o seu gene de estudo (diminuindo o valor CT do gene controle do CT do gene de estudo), podemos comparar diferenças entre os grupos experimentais. Foi utilizado o gene de 36B4 como controle interno. Com esses valores podemos normalizar os valores de CT de amostras diferentes para uma mesma quantidade de cDNA.

Após a normalização das amostras, o grupo controle teve seu valor convertido para um e os outros grupos terão seus valores convertidos em relação a ele. Com esses valores faremos a análise estatística.

O produto final de amplificação foi corrido em gel de agarose, para verificação da amplificação de banda única (Figura 20).

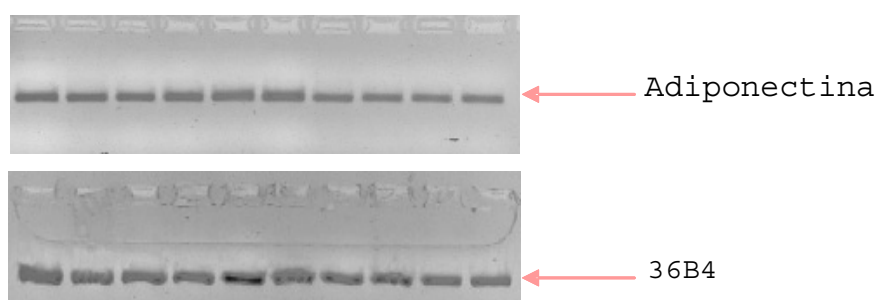


Figura 20: Amostras ao final da reação de PCR em tempo real, aplicadas em gel de agarose, onde foram submetidas a corrente elétrica. Foi verificada a amplificação de uma única banda para cada primer utilizado.

3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram expressos como média e erro padrão da média. Para a análise estatística dos resultados empregamos a análise de variância univariada (ANOVA) seguida de teste de comparação múltipla, Student-Newman-Keuls (GrafPAD, Prisma). No caso específico do TSH, antes da análise ocorreu uma transformação logarítmica dos valores obtidos. As diferenças são consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

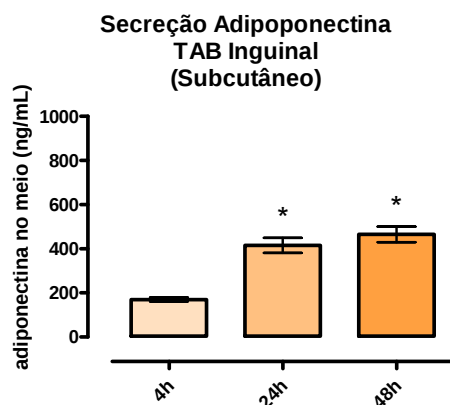
Para testar a viabilidade da realização de explantes de tecido adiposo, a análise histológica com marcação HE foi realizada, assim como foi dosada a secreção de leptina e adiponectina após 4h, 24h ou 48h em meio de cultura.

A concentração de adiponectina no meio de incubação de tecido adiposo branco inguinal incubados por 24h foi aproximadamente 2,5 vezes maior que a observada às 4h ($p < 0,0001$). Após 48h de incubação, a concentração de adiponectina no meio de incubação permaneceu significativamente elevada se comparada ao período de 4h de incubação ($p < 0,0001$) e apenas ligeiramente superior a detectada em 24h (Figura 21 A).

Nos explantes epididimais, a liberação de adiponectina de 24h foi 1,7 vezes maior que a de 4h ($p < 0,001$) e em 48h, a secreção ainda aumentou 1,5 vezes comparado à 24h ($p < 0,0001$) (Figura 21 B).

Portanto, no tecido inguinal a secreção máxima de adiponectina foi obtida às 24h e no epididimal às 48h. Já a taxa de secreção (concentração de adiponectina/hora) foi aparentemente decrescente com o tempo em ambos os tecidos.

A



B

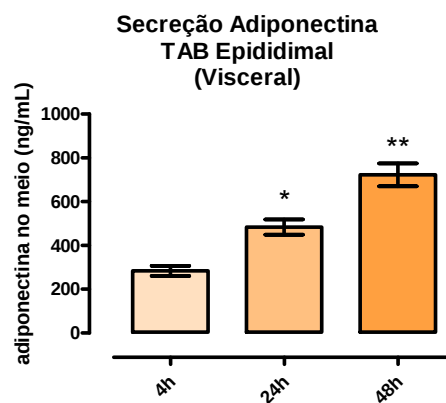


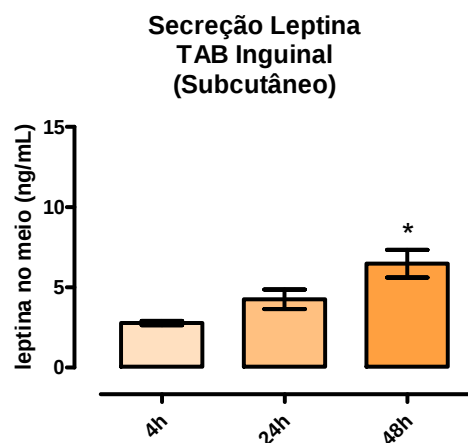
Figura 21: A: Curva temporal da secreção de adiponectina por explante de tecido adiposo branco inguinal (tipo subcutâneo) de ratos. * $p < 0,0001$ em relação a 4h. B: Curva temporal da secreção de adiponectina por explante de tecido adiposo branco epididimal (tipo visceral) de rato. * $p < 0,001$ em relação a 4h, ** $p < 0,0001$ em relação a 4 e 24h. Os explantes foram realizados em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂ por diferentes tempos de incubação. Os valores representam a quantificação de adiponectina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 6 por grupo.

A concentração de leptina no meio de incubação do TAB inguinal às 24 horas foi ligeiramente maior que a de 4h (1,5 vezes, sem diferença estatística) e em 48h de incubação foi 1,5 e 2,3 vezes maior que 24 e 4 horas, respectivamente ($p < 0,05$ em relação a 24h e $p < 0,001$ em relação a 4h) (Figura 22 A).

A liberação de leptina pelo tecido adiposo branco epididimal comportou-se de forma similar, porém as diferenças entre 48 horas e 4 e 24h (4,3 e 2,6 vezes maior) foram mais acentuadas (Figura 22 B).

Portanto, principalmente no tecido epididimal, a taxa de secreção parece aumentar após 24h de incubação.

A



B

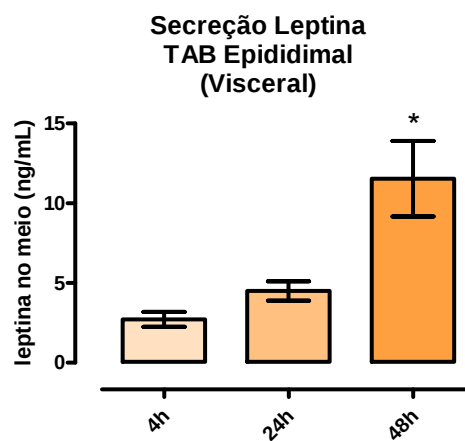
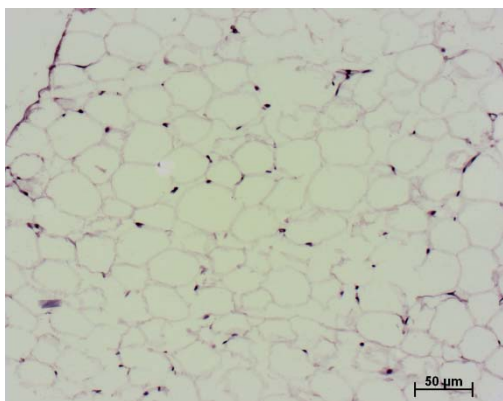


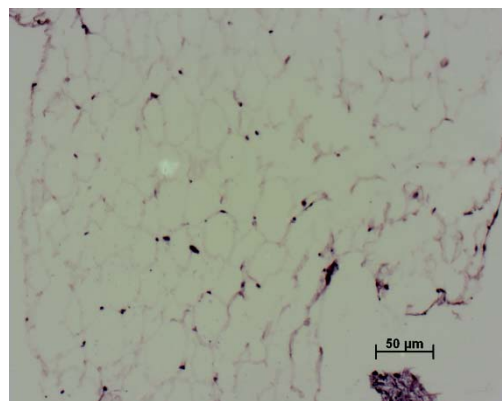
Figura 22: A: Curva temporal da secreção de leptina por explante de tecido adiposo branco inguinal (tipo subcutâneo) de ratos. * $p < 0,05$ em relação a 24h e $p < 0,001$ em relação a 4h. B: Curva temporal da secreção de leptina por explante de tecido adiposo branco epididimal (tipo visceral) de ratos. * $p < 0,001$ em relação a 4 e 24h. Os explantes foram realizados em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂ por diferentes tempos de incubação. Os valores representam a quantificação de leptina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 5 por grupo.

A análise histológica do tecido demonstrou que mesmo após 48h em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, ambos os tecidos adiposos brancos ainda se encontravam histologicamente preservados (Figura 23 e Figura 24).

A



B



C

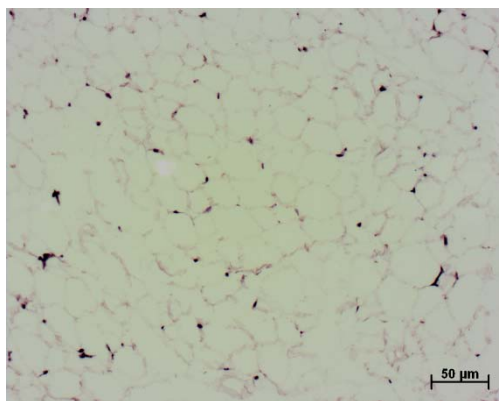
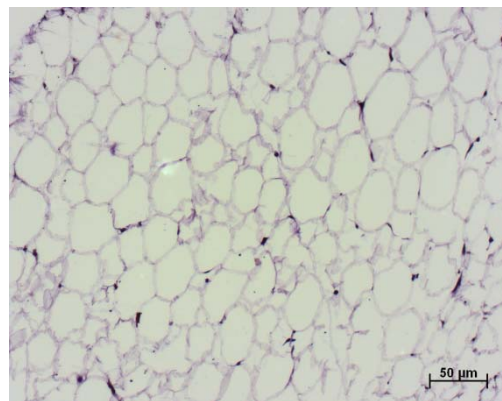
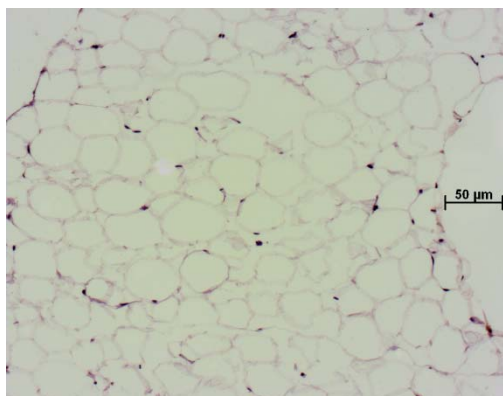


Figura 23: A: Fotomicrografia de corte histológico de explante de tecido adiposo branco inguinal de ratos corado com hematoxilina e eosina mantido em meio DMEM com soro livre de iodotironinas em atmosfera carbogênica por 4 horas. B: *idem* por 24 horas. C: *bis idem* por 48 horas.

A



B

C

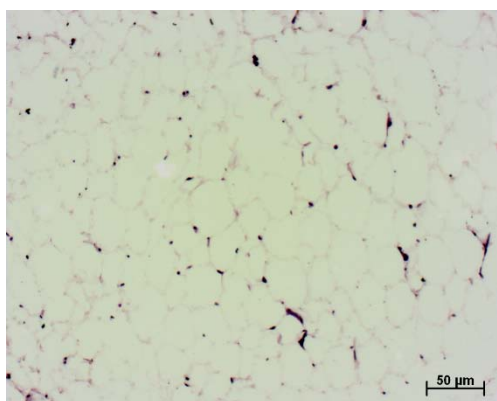


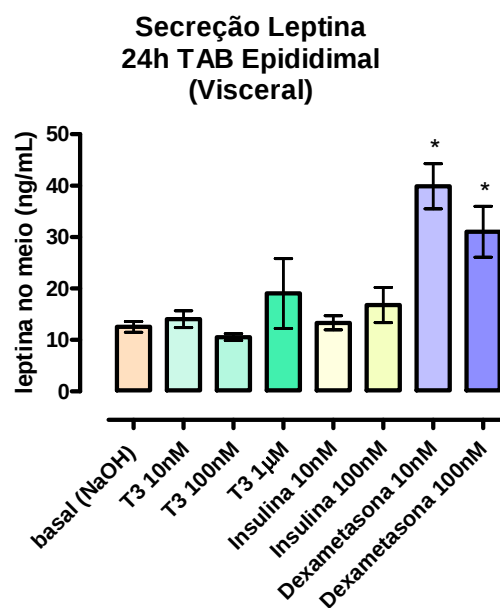
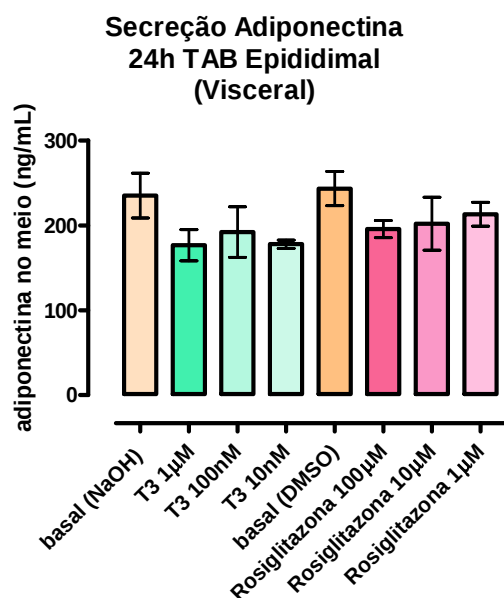
Figura 24: A: Fotomicrografia de corte histológico de explante de tecido adiposo branco epididimal de ratos corado com hematoxilina e eosina mantido em meio DMEM com soro livre de iodotironinas em atmosfera carbogênica por 4 horas. B: *idem* por 24 horas. *bis idem* por 48 horas.

Diferentes concentrações de T3 foram testadas, inicialmente, em explantes de tecido adiposo branco epididimal incubados por 24 horas. Também foi testada a capacidade do tecido de responder a estímulos externos adicionando-se diferentes concentrações de substâncias que conhecidamente alteram a secreção *in vivo* de adipocitocinas.

Em TAB epididimal, (Figura 25 A) não foi encontrada diferença na concentração de adiponectina no meio quando a incubação foi realizada na presença de T3 (10, 100nM ou 1µM) ou rosiglitazona (1, 10 ou 100µM). Também não foi verificada diferença na liberação de adiponectina comparando DMSO - diluente de rosiglitazona - com NaOH – diluente de T3.

Nos explantes de TAB epididimal também não houve alteração de leptina no meio quando T3 (10, 100nM ou 1µM) ou insulina (10 ou 100nM) foram adicionados no meio por 24 horas, mas a secreção de leptina aumentou 3,2 e 2,5 vezes quando dexametasona (10 ou 100 nM, respectivamente) foi adicionada (Figura 25 B).

A



B

Figura 25: Explante de tecido adiposo branco epididimal (tipo visceral) de ratos em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂ por 24h, contendo T3 ou rosiglitazona ou insulina ou dexametasona. A: Secreção de adiponectina, B: Secreção de leptina. Os valores representam a quantificação de adiponectina ou leptina no meio de incubação de amostras de 50mg

de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 5 por grupo em A e 4 em B.
* $p < 0,0001$ em relação aos outros grupos.

Realizados os testes funcionais iniciais, realizamos novos experimentos com maior número de amostras. Os explantes de tecido adiposo foram mantidos por 24 e 48 horas em meio contendo 10nM de T3, 10 μ M de rosiglitazona, 100 nM de insulina e 10nM de dexametasona. A leptina e adiponectina do meio foram dosadas após 24 e 48h de incubação e a expressão de mRNA de adiponectina do tecido foi quantificada no grupo de 48h.

Não foi encontrada diferença na liberação de adiponectina pelo tecido adiposo branco subcutâneo quando T3 foi adicionado ao meio de incubação por 24 ou 48 horas. Também não houve diferença quando insulina ou dexametasona foram adicionados ao meio de incubação por 24h. Já a adição de rosiglitazona ao meio diminuiu a secreção de adiponectina em 21% em 24h ($p < 0,05$) e 52% em 48h de exposição ($p < 0,0001$) (Figura 26). Foi encontrada uma diminuição de 40% ($p < 0,05$) na expressão de mRNA de adiponectina quando o tecido foi incubado com T3. De forma contrária, a expressão de mRNA de adiponectina (Figura 26 C) aumentou 1,8 vezes em 48h de incubação em meio contendo rosiglitazona ($p < 0,001$) em comparação ao basal.

A secreção de adiponectina no TAB epididimal não foi alterada quando os tecidos foram incubados com T3 ou insulina. A rosiglitazona diminuiu a liberação de adiponectina 45% ($p < 0,0001$) em 24 horas (Figura 27 A) e 68% ($p < 0,0001$) em 48h de incubação (Figura 27 B). Já a concentração de adiponectina aumentou 1,3 vezes ($p < 0,05$) quando o tecido foi incubado por

24h em meio contendo dexametasona. Não houve alteração da expressão de mRNA de adiponectina no TAB epididimal de nenhum grupo (Figura 27 C).

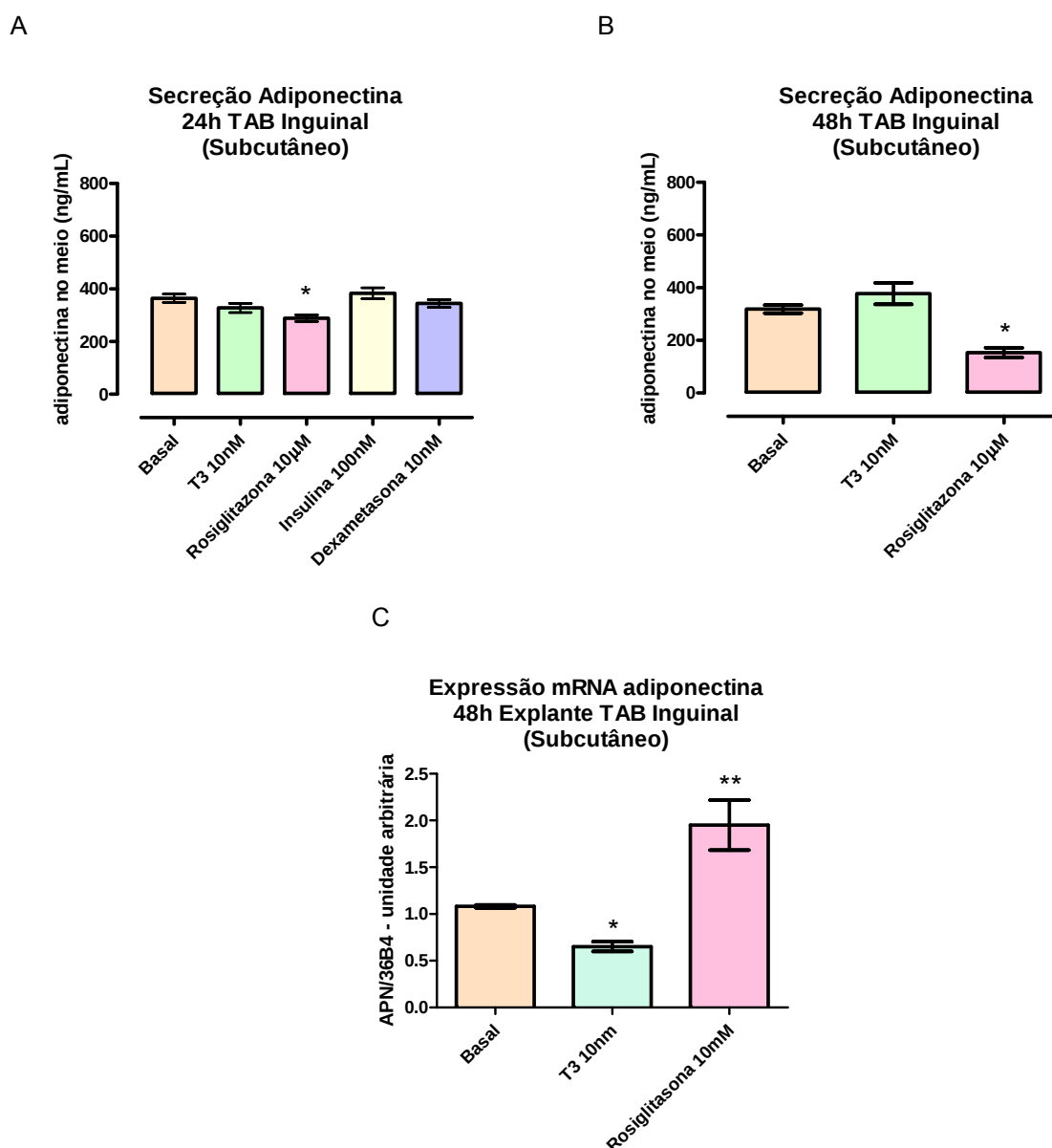


Figura 26: Explante de tecido adiposo branco inguinal (tipo subcutâneo) de ratos em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂, contendo T3 ou rosiglitazona ou insulina ou dexametasona. A: Secreção de adiponectina por 24h, *p<0,05 em relação aos grupos basal e insulina. B: *idem* por

48h, * $p < 0,0001$ em relação aos grupos basal e T3. C: Expressão de mRNA de adiponectina em 48h, * $p < 0,05$ em relação aos grupos basal e ** $p < 0,001$ em relação aos outros grupos. Os valores representam a quantificação de adiponectina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 10 por grupo em A e B e a expressão de mRNA de adiponectina (APN) em relação a expressão de mRNA de 36B4 em amostras de 50mg de tecido por poço, totalizando 6 por grupo em C.

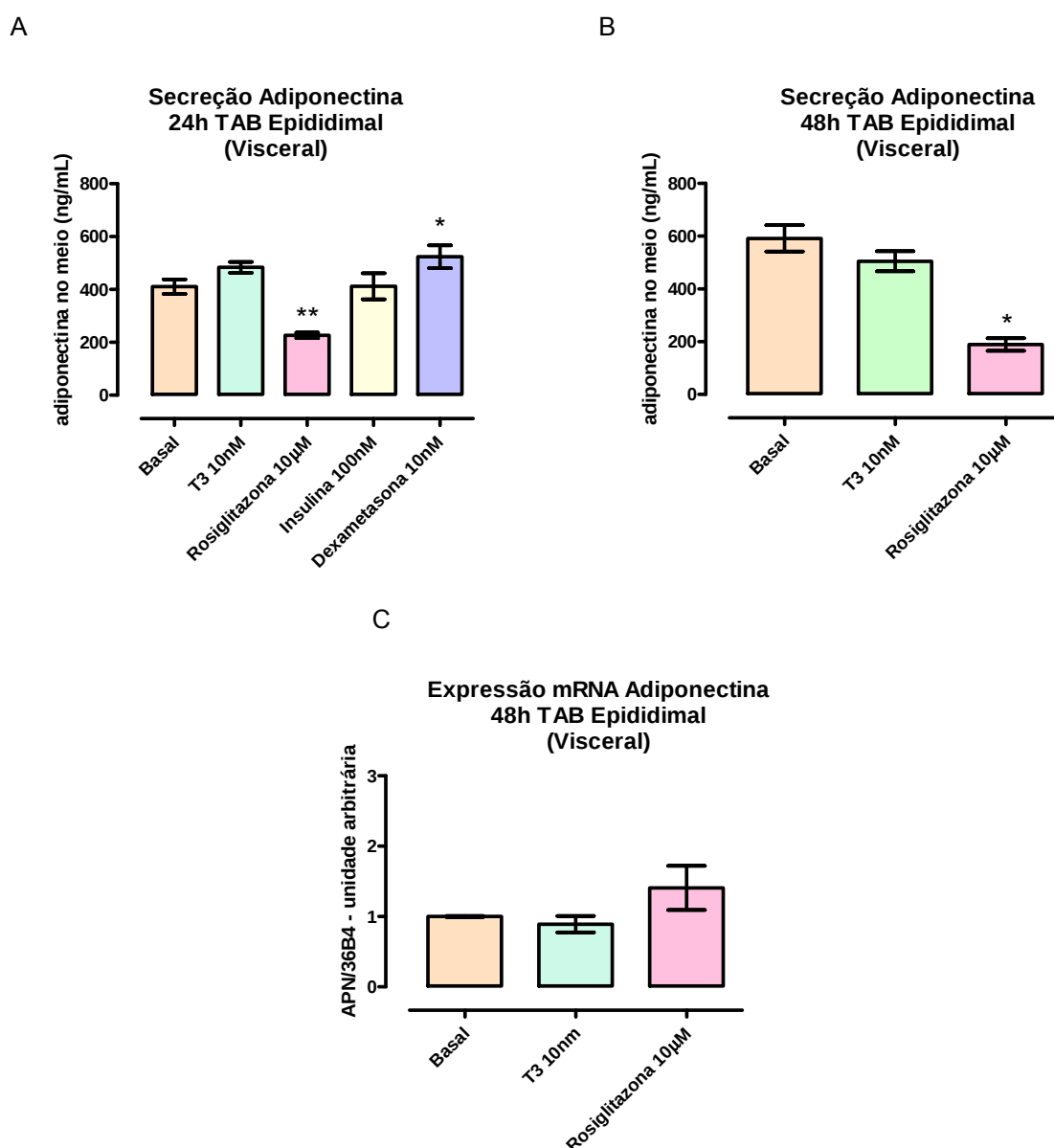


Figura 27: Explante de tecido adiposo branco epididimal (tipo visceral) de ratos em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera

de CO₂, contendo T3 ou rosiglitazona ou insulina ou dexametasona. A: Secreção de adiponectina por 24h, * $p < 0,05$ em relação ao grupo basal e ** $p < 0,0001$ em relação aos outros grupos. B: *idem* por 48h, * $p < 0,0001$ em relação aos grupos basal e T3. C: Expressão de mRNA de adiponectina em 48h. Os valores representam a quantificação de adiponectina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 10 por grupo em A e B e a expressão de mRNA de adiponectina (APN) em relação a expressão de mRNA de 36B4 em amostras de 50mg de tecido por poço, totalizando 7 por grupo em C.

No que se refere à secreção de leptina no tecido adiposo branco inguinal, esta não se alterou com adição de T3 ou insulina. A liberação de leptina aumentou 8 vezes ($p < 0,0001$) após incubação de 24 horas com dexametasona e diminuiu 75% ($p < 0,001$) com rosiglitazona, mas apenas em 48h de incubação (Figura 28).

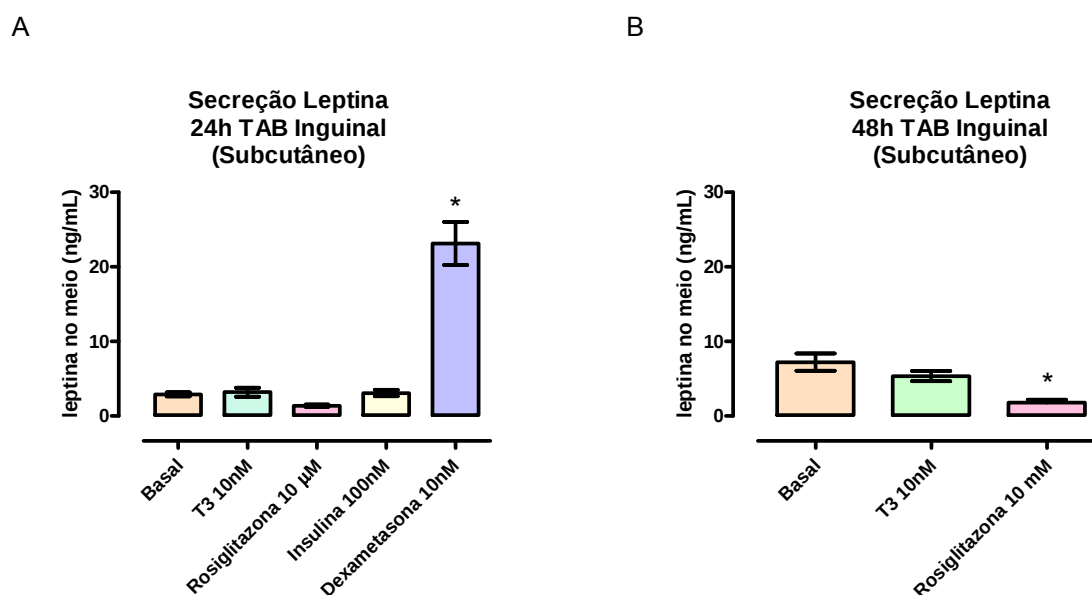


Figura 28: Explante de tecido adiposo branco inguinal (tipo subcutâneo) de ratos em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂, contendo T3 ou rosiglitazona ou insulina ou dexametasona. A: Secreção de leptina por 24h, * $p < 0,0001$ em relação aos outros grupos. B: *idem* por 48h, * $p < 0,001$ em relação aos outros. Os valores representam a quantificação de leptina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 6 por grupo.

No tecido adiposo branco epididimal, a secreção de leptina não foi alterada no meio contendo T3 ou rosiglitazona ou insulina por 24h. A adição de dexametasona ao meio incubado por 24h ocasionou um aumento de 3 vezes ($p<0,0001$) na secreção de leptina (Figura 29 A). O T3 foi capaz de inibir a liberação de leptina para o meio em 40% ($p<0,001$) em 48h de incubação (Figura 29 B), assim como a rosiglitazona também foi capaz de inibir a secreção de leptina com 48h de incubação em 75% ($p<0,0001$).

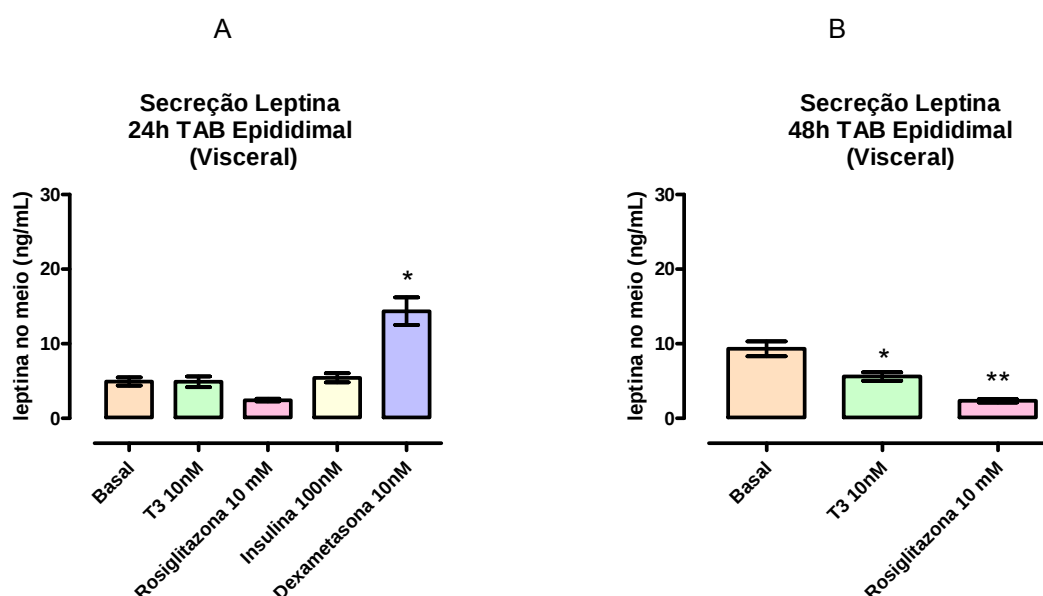


Figura 29: Explante de tecido adiposo branco epididimal (tipo visceral) de ratos em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂, contendo T3 ou rosiglitazona ou insulina ou dexametasona. A: Secreção de leptina por 24h, * $p<0,0001$ em relação aos outros grupos. B: *idem* por 48h, * $p<0,001$ em relação aos outros grupos e ** $p<0,0001$ em relação ao basal. Os valores representam a quantificação de leptina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 5 por grupo.

Para averiguar se a condição tireoideana do animal alteraria a expressão de adiponectina e secreção de adiponectina e leptina *in vivo*, foram criados

animais hipo- e hipertireoideos, pelo tratamento com MMI por 21 dias e T4 por 15 dias respectivamente.

Como esperado, os animais hipotireoideos apresentaram concentrações séricas elevadas de TSH e diminuídas de hormônios tireoideanos, enquanto os animais hipertireoideos apresentaram concentrações diminuídas de TSH e aumentadas de HT (Figura 30).

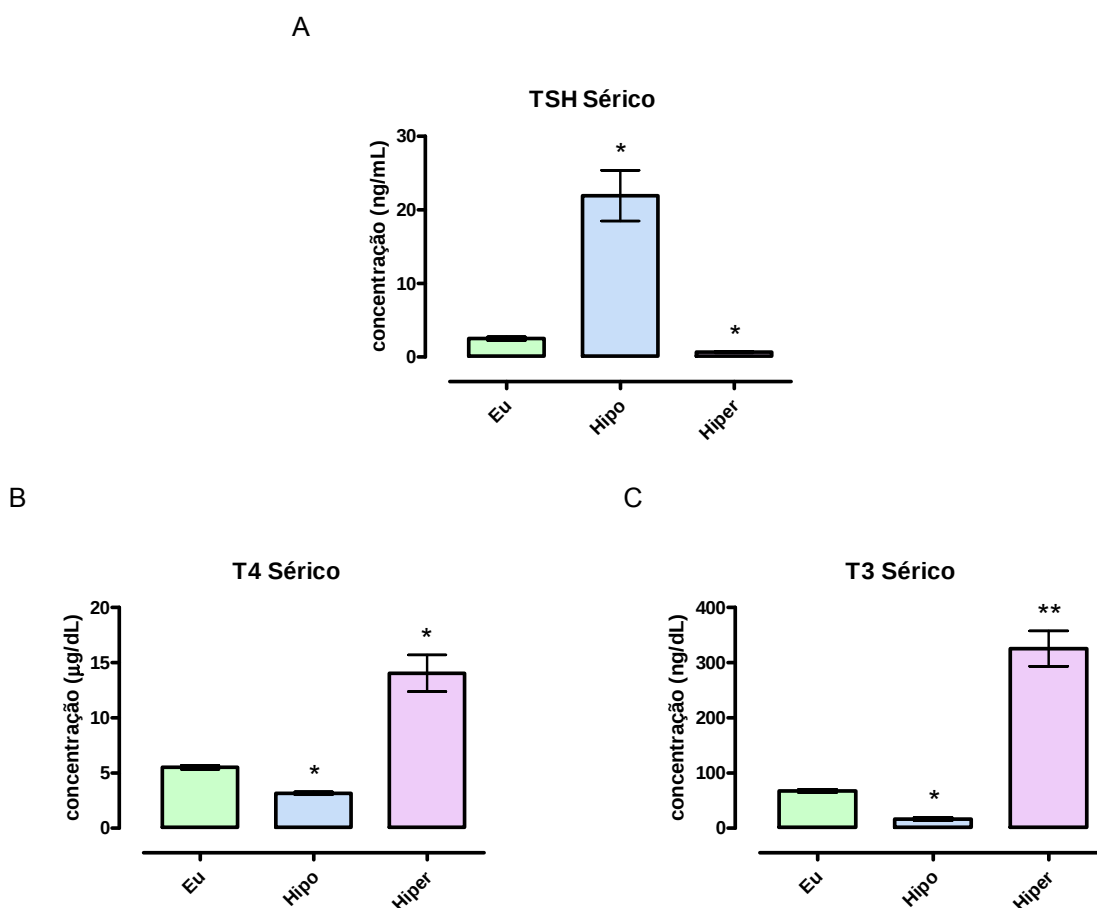


Figura 30: A: Concentração sérica do hormônio estimulador da tireóide (TSH) em animais eu-, hipo- e hipertireoideos. Cada grupo contém 15 animais. * $p < 0,0001$ em relação aos outros grupos. B: Concentração sérica de tiroxina (T4). Cada grupo contém 20 animais. * $p < 0,0001$ em relação aos outros grupos. C: Concentração sérica de triiodotironina (T3). Cada grupo contém 10 animais. * $p < 0,001$ em relação ao grupo eutireoideo, ** $p < 0,0001$ em relação aos outros grupos.

Os animais tiveram o seu peso antes e após o tratamento aferido. No dia do sacrifício tecidos adiposos utilizados também foram pesados e um fragmento foi utilizado estudo morfológico da área e perímetro dos adipócitos, outro para extração de mRNA de adiponectina, e um terceiro fragmento foi utilizado para realização de explantes teciduais.

Tanto os animais hipo-, quanto hipertireoideos apresentavam peso final menor que o grupo controle (Tabela 1). O ganho de peso (Figura 31) foi 97% menor no grupo hipotireoideo, sendo apenas 41% menor no grupo hipertireoideo ($p < 0,0001$). Apesar disso, apenas os animais hipertireoideos apresentavam diminuição tanto da massa total de tecido adiposo branco inguinal (Eu: $4,18 \pm 1,42$ g; Hipo: $3,81 \pm 0,86$ g; Hiper: $2,74 \pm 0,85$ g*) e epididimal (Eu: $3,26 \pm 1,03$ g; Hipo: $2,70 \pm 0,63$ g; Hiper: $2,26 \pm 0,68$ g*) quanto da massa de tecido adiposo inguinal e epididimal em relação ao peso corporal (Figura 32 A e B). Os animais hipertireoideos também apresentavam aumento da massa de tecido adiposo marrom (Eu: $0,29 \pm 0,81$ g; Hipo: $0,25 \pm 0,06$ g; Hiper: $0,55 \pm 0,14$ g*) e aumento da massa de TAM em relação ao PC (Figura 32 C).

Tabela 1: Peso dos animais antes e após o tratamento para obtenção do hipotireoidismo (tratamento com metimazol por 21 dias) e hipertireoidismo (tratamento com T4 por 15 dias).

<i>Peso</i>	Eutireoideo	Hipotireoideo	Hipertireoideo
Inicial	$267,5 \pm 27,39$	$270,5 \pm 31,69$	$273,1 \pm 32,95$
Final	$355,3 \pm 35,00a$	$283,2 \pm 18,37b$	$328,5 \pm 38,70ab$

n= 15 animais por grupo. a = diferença em relação à semana inicial, $p < 0,001$ e b = diferença em relação ao eutireoideo, $p < 0,0001$

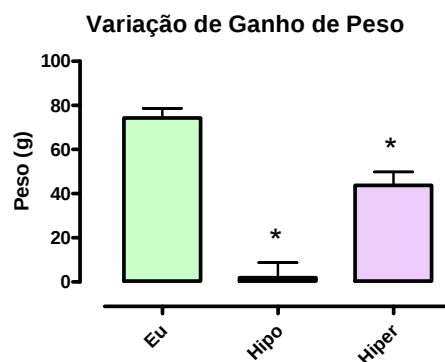


Figura 31: Diferença entre o peso final e inicial de animais eu-, hipo- e hipertireoideos. Cada grupo contém 15 animais. * $p < 0,0001$ em relação aos outros grupos.

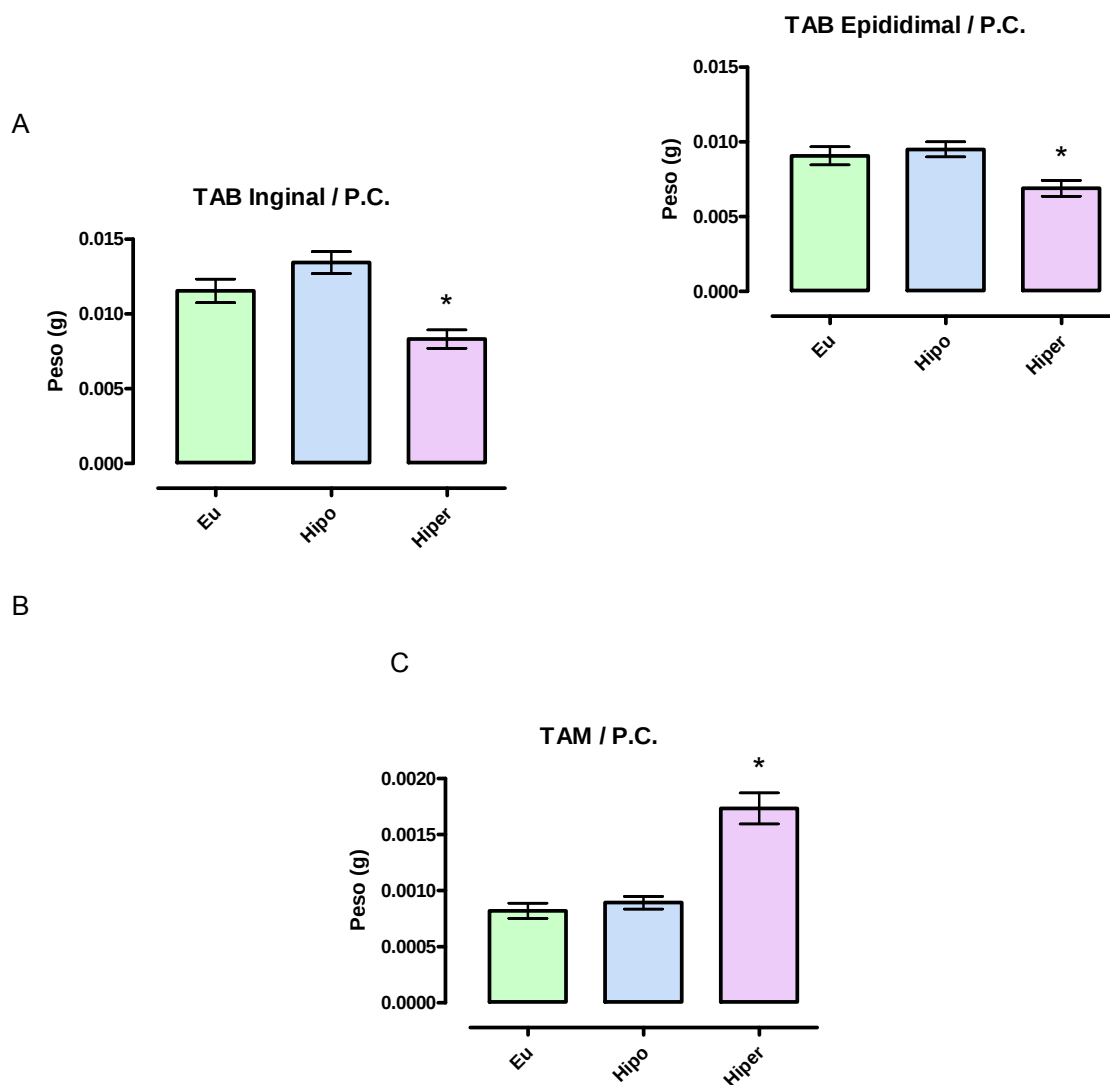


Figura 32: Peso do tecido adiposo branco inguinal (A) e epididimal (B) e marrom (C) de ratos em relação ao peso corporal (PC) de animais eu-, hipo- e hipertireoideos. Cada grupo contém 15 animais. * $p < 0,001$ em relação aos outros grupos.

O estudo morfológico demonstrou que a área e perímetro dos adipócitos do tecido epididimal eram aparentemente maiores que os do tecido inguinal (Figura 33 e Figura 34). Também verificamos que no tecido adiposo branco inguinal a área dos adipócitos encontrou-se diminuída 28% ($p<0,0001$) nos animais hipotireoideos e 25% ($p<0,0001$) nos animais hipertireoideos em relação aos adipocitos dos animais eutireóideos (Figura 33 A). O perímetro desses adipócitos também mostraram-se diminuídos 11% ($p<0,0001$) nos animais hipo- e hipertireoideos em relação aos eutireóideos (Figura 33 B).

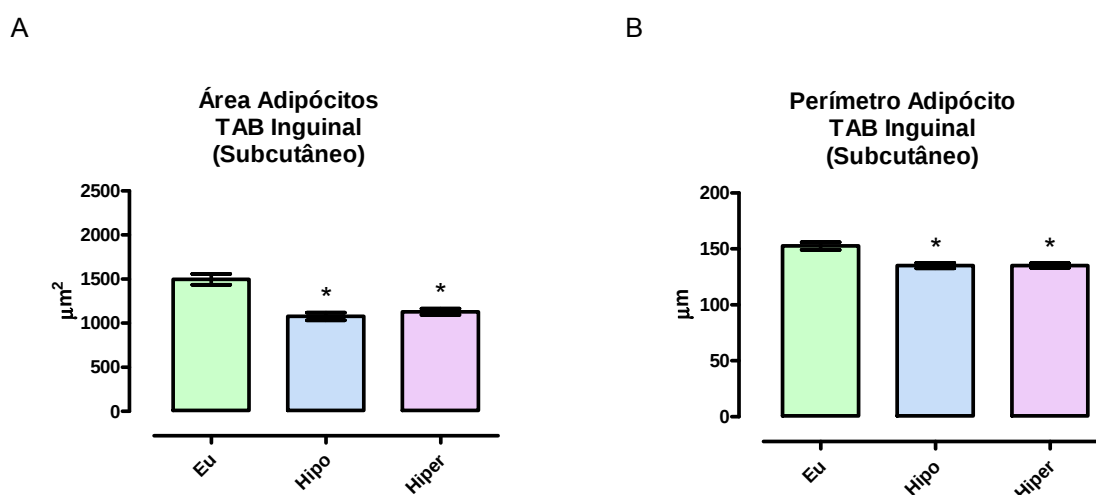


Figura 33: Área (A) e perímetro (B) dos adipócitos do tecido adiposo branco inguinal de animais eu-, hipo- e hipertireoideos. Cada grupo contém 5 animais. Cada animal deu origem a 3 lâminas, com 4 cortes em cada. Cada corte deu origem a um campo. De cada campo foram selecionados 8 adipócitos. * $p<0,0001$ em relação ao grupo eutireoideo.

No tecido adiposo branco epididimal, os adipócitos dos animais hipo- e hipertireoideos apresentaram área 15 e 22% ($p<0,001$) menor que os adipócitos dos animais eutireóideos (Figura 34 A). O perímetro foi 9% menor ($p<0,0001$) nos animais hipotireoideos e 14% menor ($p<0,0001$) nos animais

hipertireoideos em relação aos adipócitos dos animais eutireóideos (Figura 34 B).

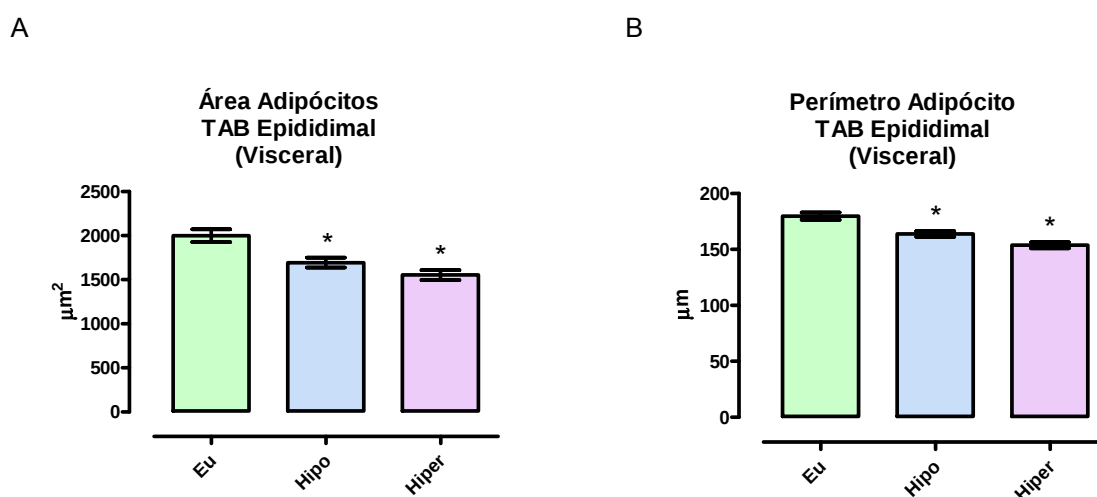


Figura 34: Área (A) e perímetro (B) dos adipócitos do tecido adiposo branco epididimal de animais eu-, hipo- e hipertireoideos. Cada grupo contém 5 animais. Cada animal deu origem a 3 lâminas, com 4 cortes em cada. Cada corte deu origem a um campo. De cada campo foram selecionados 8 adipócitos. * $p < 0,0001$ em relação ao grupo eutireoideo.

A expressão de RNA de adiponectina foi quantificada nos tecidos adiposos brancos e marrom dos animais eu-, hipo- e hipertireoideos. Também foram dosadas a secreção sérica de adiponectina e leptina.

A concentração sérica de adiponectina se encontrava 3 vezes maior no grupo hipotireoideo ($p<0,0001$), mas não se alterou no grupo hipertireoideo (Figura 35 A). Já a concentração sérica de leptina não alterou nos animais hipotireoideos, mas estava 70% menor ($p<0,0001$) nos animais hipertireoideos (Figura 35 B).

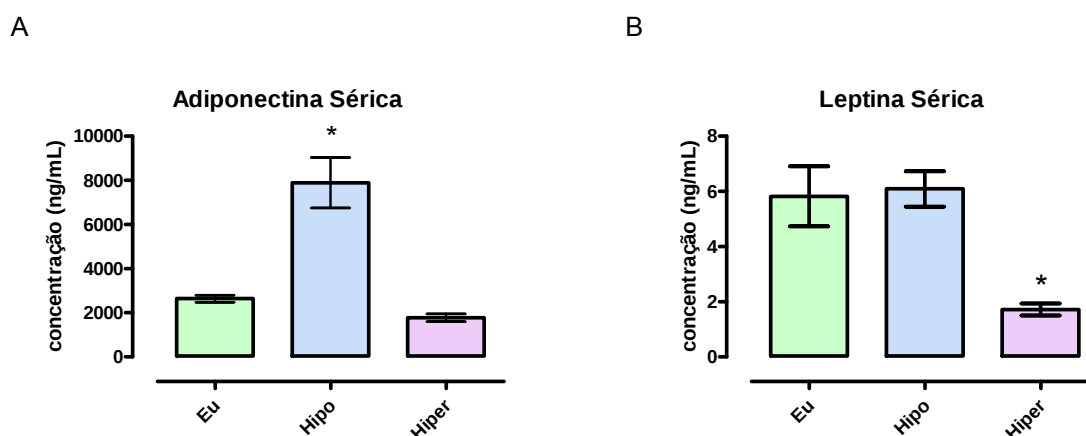
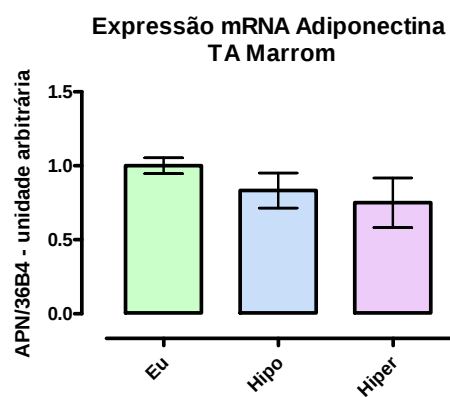


Figura 35: A: Concentração sérica de adiponectina (A) em animais eu-, hipo- e hipertireoideos. Cada grupo contém 20 animais. * $p<0,0001$ em relação aos outros grupos. B: Concentração sérica de leptina. Cada grupo contém 10 animais. * $p<0,0001$ em relação aos outros grupos.

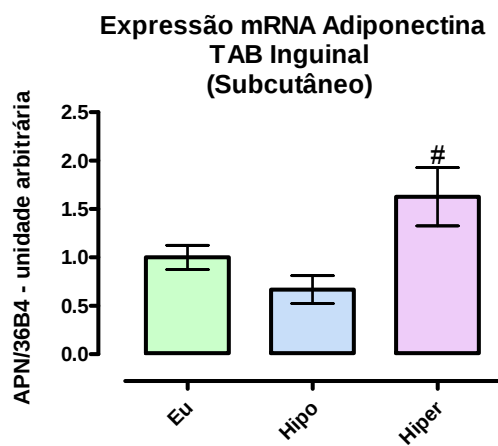
Não foram verificadas diferenças significativas na expressão de mRNA de adiponectina nos diferentes estados tireoideanos no tecido adiposo marrom (Figura 36 A). No tecido adiposo branco inguinal (Figura 36 B) a expressão de mRNA do grupo hipertireoideo se apresentou aumentada em relação a dos animais hipotireoideos ($p<0,05$). Já no TAB epididimal, a expressão de mRNA

de adiponectina diminui pela metade nos animais hipertireoideos ($p<0,05$) em relação aos animais eu- e hipotireoideos (Figura 36 C).

A



B



C

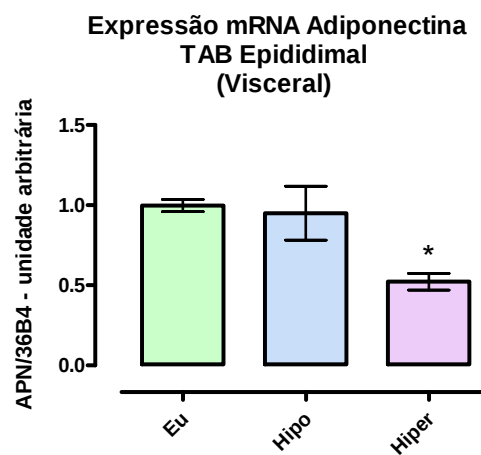


Figura 36: Expressão de mRNA de adiponectina de tecido adiposo marrom (A), branco inguinal (tipo subcutâneo) (B) e epididimal (tipo visceral) (C) de ratos eu-, hipo- e hipertireoideos. Os valores representam a expressão de mRNA de adiponectina em relação a expressão de mRNA de 36B4. Cada grupo contém 5 animais. # $p<0,05$ em relação aos animais hipotireoideos. * $p<0,05$ em relação aos outros grupos.

A fim de verificar se explantes teciduais responderiam de maneira similar ao verificado nos animais *in vivo*, a secreção de adiponectina e leptina de explantes teciduais de animais eu-, hipo- e hipertireoideos foi avaliada. Também foi quantificada a expressão de RNA de adiponectina nesses tecidos.

Os explantes de tecido adiposo branco inguinal apresentaram aumento de 1,3 vezes ($p<0,05$) na secreção de adiponectina no grupo hipotireoideo e diminuição de 39% ($p<0,001$) no grupo hipertireoideo em relação ao grupo eutireoideo (Figura 37 A). Já a expressão do seu mRNA não foi alterada com os tratamentos (Figura 37 B).

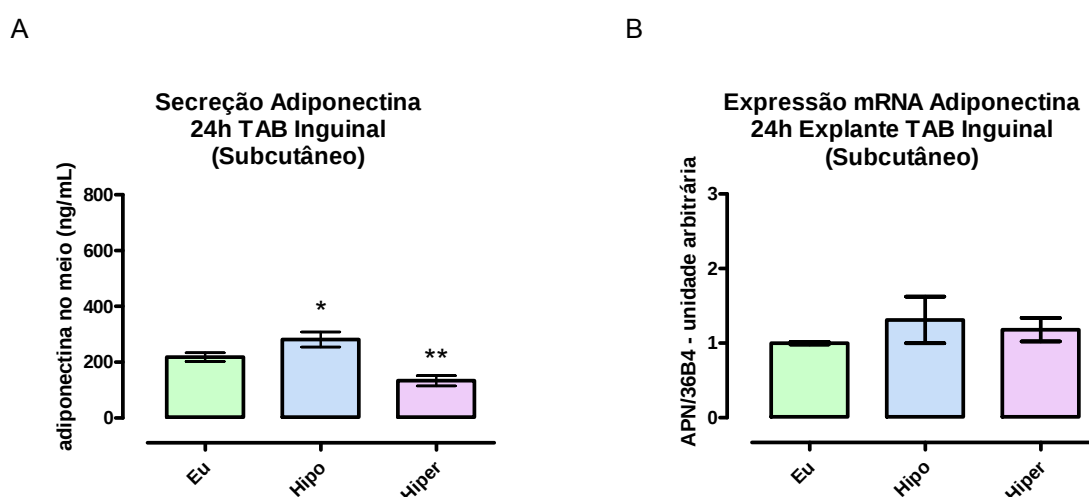


Figura 37: Explante de tecido adiposo branco inguinal (tipo subcutâneo) de ratos eu-, hipo-, e hipertireoideos em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂ por 24h. A: Secreção de adiponectina, * $p<0,05$ em relação ao grupo eutireoideo ** $p<0,001$ em relação aos outros grupos. B: Expressão de mRNA de adiponectina. Os valores representam a quantificação de adiponectina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 10 por grupo em A e a expressão de mRNA de

adiponectina em relação a expressão de mRNA de 36B4 em amostras de 50mg de tecido por poço, totalizando 5 por grupo em B.

Nos explantes de tecido adiposo branco epididimal, no grupo hipotireoideo ocorreu um aumento de 2,4 vezes ($p<0,0001$) na secreção de adiponectina (Figura 38 A), não verificado no grupo hipertireoideo. A expressão do mRNA de adiponectina não se alterou no grupo hipotireoideo, mas diminuiu 76% ($p<0,0001$) no grupo hipertireoideo (Figura 38 B).

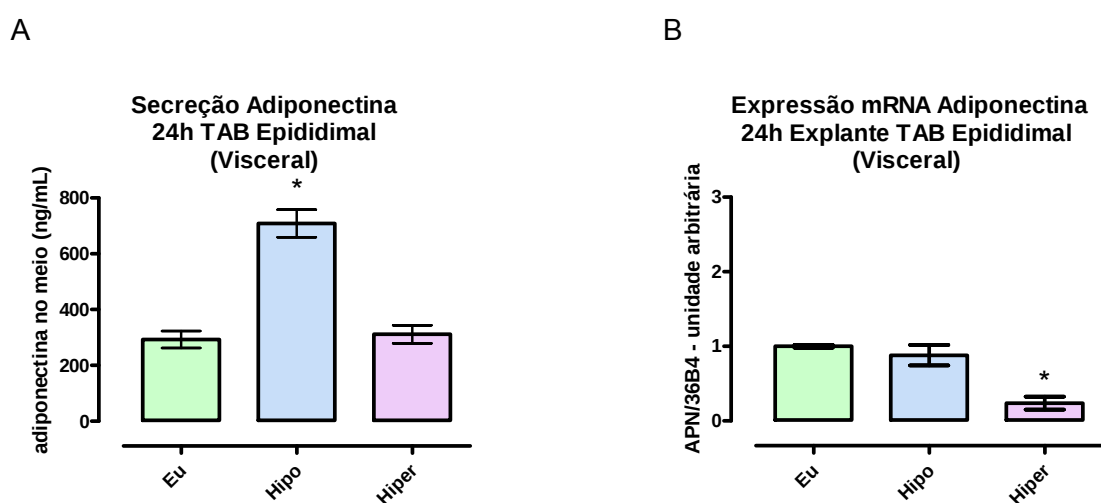
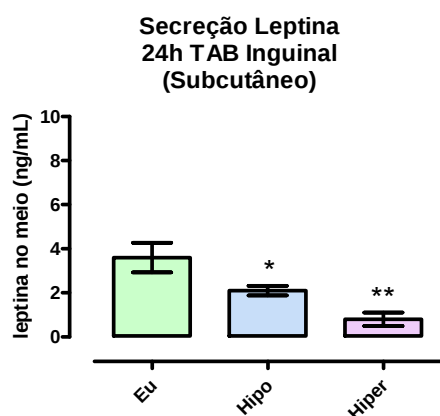


Figura 38: Explante de tecido adiposo branco epididimal (tipo visceral) de ratos eu-, hipo- e hipertireoideos em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂ por 24h. A: Secreção de adiponectina, B: Expressão de mRNA de adiponectina. Os valores representam a quantificação de adiponectina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 10 por grupo em A e a expressão de mRNA de adiponectina em relação a expressão de mRNA de 36B4 em amostras de 50mg de tecido por poço, totalizando 5 por grupo em B. * $p<0,0001$ em relação aos outros grupos.

A secreção de leptina pelos explantes de tecido adiposo branco inguinal diminuiu 42% ($p<0,05$) nos animais hipotireoideos e 78% ($p<0,001$) nos hipertireoideos (Figura 39 A). Já a secreção de leptina nos explantes de tecido adiposo epididimal diminuiu 77% ($p<0,0001$) nos animais hipertireoideos, não alterando nos animais hipotireoideos (Figura 39 B).

A



B

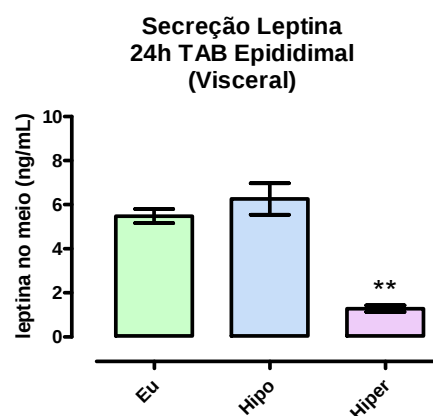


Figura 39: Secreção de leptina por explante de tecido adiposo branco inguinal (tipo subcutâneo) (A) e epididimal (tipo visceral) (B) de ratos eu-, hipo- e hipertireoideos em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, mantidos a 37°C em atmosfera de CO₂ por 24h. Os valores representam a quantificação de leptina no meio de incubação de amostras de 50mg de tecido (em fatias de 10mg) por poço, totalizando 5 por grupo. * $p<0,05$ em relação ao grupo eutireoideo e ** $p<0,001$ em relação aos outros grupos.

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho demonstra que o T3 só apresenta ação direta na expressão do mRNA de adiponectina em explantes de tecido adiposo branco inguinal de animais normais. E que alterações no estado tireoideano do animal ocasionam mudanças tanto na expressão de mRNA quanto na secreção de adiponectina, *in vitro* e *in vivo*.

O T3 apresentou efeito direto inibindo a secreção de leptina em explantes de TAB epididimal de animais normais, assim como o estado tireoideano também regula a secreção de leptina.

Em trabalho anterior, verificamos que o hipertireoidismo aumentava a concentração sérica de adiponectina³²⁰. Contudo, a metodologia de estudo empregada não permitia verificar se o efeito dos hormônios tireoideanos sobre a secreção de adiponectina seria um efeito direto da ação dos HT no tecido adiposo, ou não. Buscando uma maneira de estudar a resposta do tecido adiposo branco ao T3 sem a interferência de fatores sistêmicos, padronizamos uma metodologia de explantes de tecido adiposo em meio de cultura, onde poderíamos tratar esse tecido de forma isolada. Utilizamos um tipo de tecido considerado visceral, tecido epididimal e outro subcutâneo, o inguinal. Vários estudos já demonstraram que os diferentes tipos de tecido adiposo têm capacidades funcionais distintas^{143,151,193,316,323}. Após 48h em meio de cultura DMEM com soro livre de iodotironinas, as células ainda mantinham suas características morfológicas, eram capazes de secretar adipocitocinas e responder a estímulos externos (Figura 21,

Figura 22, Figura 23, Figura 24 e Figura 25). Dessa forma, concluímos que a metodologia empregada era satisfatória.

Existem muitas maneiras de se estudar o tecido adiposo *in vitro*. A maneira que consideramos mais fisiológica foi o explante tecidual, pois o tecido adiposo é constituído de diferentes tipos celulares e nesse tipo de ensaio, as interações entre esses tipos celulares diversos são mantidas. A desvantagem dessa metodologia é não poder discernir se o efeito observado é sobre os adipócitos maduros ou sobre outro tipo celular, uma vez que já foi demonstrado em tecido adiposo humano que as células da fração de matriz e células da fração estroma-vascular são capazes de secretar adiponectina, mas não leptina^{151,316}. Já o mRNA de adiponectina não foi encontrado em pré-adipócitos dos explantes de tecido adiposo humano¹⁵¹, porém está presente nas células da fração de matriz e, em maior abundância, nos adipócitos¹⁵¹. O método mais usado para estudar os adipócitos é em cultura da linhagem celular 3T3, fibroblastos embrionários diferenciados *in vitro* em adipócitos. Outro modelo é a diferenciação *in vitro* de pré-adipócitos presentes na fração estroma-vascular do tecido adiposo adulto. A desvantagem dessa metodologia é que nem sempre essas células apresentam características morfo-funcionais dos adipócitos maduros. É possível a obtenção de adipócitos maduros diretamente do tecido adiposo, utilizando colagenase para digerir a matriz. Porém, a colagenase é danosa às células, podendo rompê-las quando expostas por tempo excessivo.

O curso temporal de secreção de adiponectina e leptina dos explantes murinos que observamos no presente trabalho (Figura 21 e Figura 22) sugeriu um padrão de secreção semelhante ao relatado para explantes de tecido adiposo humanos¹⁹³, demonstrando uma diminuição da taxa de secreção ao longo do tempo de incubação.

No tecido adiposo branco epididimal de animais eutireóideos, o T3 não foi capaz de exercer efeitos na expressão de mRNA, nem na secreção de adiponectina (Figura 27). Já no TAB inguinal, o T3 diminuiu a expressão de mRNA de adiponectina, sem alterar a secreção da proteína (Figura 26). Em cultura de células 3T3-L1, o T3 não foi capaz de alterar a expressão do mRNA de adiponectina²³¹. Já foi descrito que em cultura primária de adipócitos de tecido adiposo marrom de camundongos, o tratamento com T4 foi capaz de aumentar a expressão e secreção de adiponectina³²¹. Os dados acima apontam para uma resposta tecido específica da expressão do mRNA de adiponectina ao hormônio tireoideano, dependendo do tipo de tecido avaliado.

Com o intuito de testar outros conhecidos reguladores da secreção de adiponectina, incubamos os explantes com rosiglitazona, insulina e dexametasona. Na avaliação do mRNA escolhemos a rosiglitazona, uma vez que seu efeito de aumentar o mRNA de adiponectina é bem demonstrado^{197, 227}.

A rosiglitazona é um agonista exógeno de PPAR γ , um receptor nuclear expresso principalmente no tecido adiposo, onde controla a expressão de proteínas envolvidas no metabolismo lipídico. Sua capacidade de aumentar a sensibilidade à insulina tornou-a um medicamento amplamente utilizado nos tratamentos de diabetes tipo 2 e síndrome metabólica. Estudos *in vivo*, mostram seu efeito de diminuir a lipemia e provocar aumento do depósito de lipídios em tecido adiposo³²⁴. Já foi demonstrada em diversos estudos a capacidade dos agonistas de PPAR γ de aumentar a expressão de mRNA e a secreção de adiponectina em cultura de adipócitos de TAM¹⁹⁷, cultura de adipócitos 3T3-L1^{227,228,325} e adipócitos humanos isolados¹⁹⁴. Já em explantes de tecido adiposo humano, a rosiglitazona não foi capaz de alterar a secreção de adiponectina¹⁴⁴. Mineo e colaboradores³²⁵

demonstraram que, de forma diferenciada das células 3T3-L1, adipócitos isolados de TAB mesentérico de rato diminuem a secreção de adiponectina quando expostos a agonistas de PPAR γ . Portanto, a origem do tecido adiposo parece ser importante para a definição do efeito da rosiglitazona sobre a secreção de adiponectina *in vitro*. No presente estudo, concordamos com Mineo e colaboradores³²⁵, pois a secreção de adiponectina diminuiu tanto no tecido adiposo branco inguinal quanto no epididimal, nos dois tempos estudados (Figura 26 e Figura 27).

De forma interessante, o mRNA de adiponectina aumentou principalmente nos explante de TAB inguinal incubados por 48h na presença de rosiglitazona (Figura 26 C). Este efeito de rosiglitazona a nível transcripcional é o esperado, pois o gene da adiponectina tem um elemento responsivo a PPAR γ bem caracterizado e que pode ser ativado por rosiglitazona²²⁹. Estudos *in vivo* e *in vitro* demonstram aumento do mRNA de adiponectina induzido por rosiglitazona. No nosso estudo, o fato de termos encontrado redução de secreção de adiponectina com concomitante aumento do mRNA mostra claramente que há um efeito diferenciado da rosiglitazona quanto à secreção e à síntese de adiponectina nos explantes. Como mencionado anteriormente, em explantes de tecido adiposo de humanos há uma forte contribuição de outras células não adiposas para a secreção de adiponectina, porém a abundância do mRNA aparentemente é maior nos adipócitos. Portanto, uma outra possibilidade seria que o aumento do mRNA estaria refletindo melhor a ação da rosiglitazona nos adipócitos, enquanto que a redução da secreção poderia ser conseqüente à ação da rosiglitazona em outras células que secretam adiponectina, as quais seriam induzidas a secretar menos, ou ainda poderiam secretar fatores inibitórios da secreção de adiponectina pelo adipócito.

Não verificamos nenhuma alteração da secreção de adiponectina quando incubamos por os tecidos adiposos brancos até 24h com meio contendo insulina (Figura 26 A e Figura 27 A). Já foi demonstrado que em adipócitos 3T3, a insulina inibe a expressão do mRNA de adiponectina²³¹. Em adipócitos isolados do tecido omental de humanos, a secreção de adiponectina estava aumentada após a incubação com insulina¹⁹⁴, o que não foi verificado na secreção de células isoladas do tecido subcutâneo¹⁹⁴. Em explantes de tecido adiposo visceral humano, a expressão do mRNA foi estimulada por insulina²³².

Os glicocorticóides foram capazes de modular a expressão de mRNA de adiponectina negativamente em células 3T3 e explantes de tecido adiposo visceral humano^{231,232}. Em adipócitos isolados do TAB subcutâneo de humanos, a dexametasona inibiu a secreção de adiponectina em 24h de incubação, mas não altera a secreção em adipócitos do tecido adiposo visceral¹⁴³. Nos explantes de tecido adiposo branco epididimal de ratos, verificamos um aumento significativo da secreção de adiponectina (Figura 27 A), o que não foi encontrado nos explantes de tecido adiposo inguinal (Figura 26 A).

Quando avaliamos o efeito do T3 sobre a secreção de leptina, verificamos que ocorreu uma diminuição significativa da secreção de leptina em explantes de tecido adiposo branco epididimal em 48h de incubação (Figura 29 B). O nosso achado confirma o efeito descrito para o T3 de redução da secreção e expressão de leptina em adipócitos diferenciados *in vitro* cultivados a partir de precursores obtidos do tecido adiposo epididimal e marrom de ratos³¹⁵.

Em explantes de tecido adiposo humano, os agonistas de PPAR diminuem a secreção de leptina¹⁴⁴. Também ocorre uma diminuição da expressão do mRNA de

leptina quando adipócitos isolados de humanos são incubados com agonistas de PPAR^{145,146}. Em explantes de tecido adiposo de ratos, verificamos uma diminuição da secreção em 48h de incubação com rosiglitazona (Figura 28 B e Figura 29 B). Portanto no nosso modelo foi reproduzido o efeito da rosiglitazona inibindo a secreção de leptina.

A insulina não foi capaz de alterar a secreção de leptina em nosso estudo (Figura 28 A e Figura 29 A). Ela também não foi capaz de alterar a expressão de mRNA de explantes de TAB epididimal de ratos¹⁴⁷, mas em adipócitos isolados de humanos ela foi capaz de estimular a secreção e expressão gênica de leptina^{150,151}.

A dexametasona estimulou a secreção de leptina em explantes de ambos os tecidos adiposos estudados (Figura 28 A e Figura 29 A). Já foi demonstrado estímulo da expressão de mRNA de leptina em explantes de tecido adiposo epididimal de ratos e em adipócitos isolados humanos^{145,148,149}.

Vários autores sugerem que o estado tireoideano em seres humanos^{284,305,307,308,309,310,311,318} e roedores^{313,314,320} pode regular a produção de adiponectina e leptina, apesar de existir muita divergência na literatura.

Para avaliar o efeito do estado tireoideano sobre a expressão de mRNA de adiponectina e sobre a secreção e expressão de mRNA de adiponectina e secreção de leptina de forma isolada, criamos animais hipo- e hipertireoideos. Verificamos que os tratamentos realizados induziram ao hipo- e hipertireoidismo, uma vez que os animais hipotireoideos apresentaram concentrações altas de TSH e concentrações baixas de HT e os animais hipertireoideos apresentaram concentrações baixas de TSH e concentrações altas de HT.

No presente estudo os animais hipo- e hipertireoideos apresentaram um menor ganho de peso que os animais eutireóideos, sendo a redução mais acentuada nos animais hipotireoideos (Figura 31). Em outros estudos já foi demonstrada essa diminuição^{6,314,320,326,327,328}. Já foi relatado redução da ingestão alimentar durante o tratamento com metimazol ou propiltiouracil^{314,326} e hiperfagia durante o tratamento com T4, apesar dos animais não ganharem peso de forma proporcional, sugerindo um aumento do metabolismo basal³¹⁴.

Em nosso trabalho, o tecido adiposo marrom apresentou-se, conforme esperado, maior nos ratos hipertireoideos. Estes animais apresentaram aumento significativo da massa de tecido adiposo marrom interescapular em relação ao peso corporal (Figura 32 C), enquanto que o grupo hipotireoideo não apresentou alterações neste parâmetro.

Quanto aos resultados referentes às massas de tecido adiposo branco inguinal e epididimal em relação ao peso corporal, observou-se que, no grupo hipertireoideo, houve redução significativa das mesmas (Figura 32 A e B), o que não foi verificado nos animais hipotireoideos. Syed e colaboradores³²⁶, mostraram que, em ratos, a razão de massa adiposa total sobre peso corporal somente diminuía no grupo hipertireoideo, mas eles observaram redução significativa da massa de tecido adiposo branco em ambos os grupos, o que só foi verificado nos animais hipertireoideos no presente estudo. Já quando avaliamos a morfometria dos adipócitos dos tecidos adiposos brancos epididimal e inguinal, verificamos uma diminuição da área e do perímetro dos adipócitos nos animais hipo- e hipertireoideos em ambos os tecidos (Figura 33 e Figura 34). Já foi demonstrado que o T3 reduz o peso do tecido adiposo pela redução do tamanho dos adipócitos^{329,330}, o que também foi encontrado no nosso estudo. No que diz respeito ao hipotireoidismo,

Muniesa e colaboradores³³⁰ também encontraram diâmetro dos adipócitos diminuído nos animais hipotireoideos, mas quando esse valor é corrigido pelo peso corporal, ocorre um aumento de diâmetro em relação aos animais eutireoideos.

A adiponectina e leptina sérica foram dosadas e a expressão do mRNA de adiponectina foi quantificada nos tecidos adiposos brancos inguinal e epididimal e no tecido adiposo marrom. Verificamos um aumento da concentração sérica de adiponectina nos animais hipotireoideos, enquanto não foi verificado diferença nos animais hipertireoideos (Figura 35 A). Em estudo de Kokkinos e colaboradores³¹⁴, os animais hipotireoideos apresentavam concentrações elevadas de adiponectina, enquanto os animais hipertireoideos não apresentaram mudanças. Já em estudo de Aragão e colaboradores³²⁰, a concentração de adiponectina estava aumentada em animais hipertireoideos, mas não apresentava alterações nos animais hipotireoideos. Essas diferenças podem ser devidas a variações no grau de hipo- e hipertireoidismo encontrados nos animais estudados, uma vez que no presente estudo os animais hipotireoideos foram tratados com MMI 0,03 % por 21 dia e os hipertireoideos com T4 50µg/100g PC por 15 dias, no estudo de Kokkinos e colaboradores³¹⁴ os animais hipotireoideos foram tratados ou PTU 0,05% por 21 dias e os animais hipertireoideos com T4 250µg/kg por 14 dias e no estudo de Aragão e colaboradores³²⁰, os animais hipotireoideos foram tratados com MMI 0,03% por 28 dias e os animais hipertireoideos foram tratados por T4 50µg/100g PC por 10 dias.

Em humanos, alguns autores relatam que a concentração de adiponectina apresentou-se mais elevada no hipertireoidismo, em relação ao eutireoidismo e ao hipotireoidismo^{284,318}. Entretanto, em pacientes hipo- e hipertireoideos, Iglesias e colaboradores³⁰⁹ e Santini e colaboradores¹⁰⁰ não observaram alterações significativas nos níveis séricos de adiponectina em função da variação do estado

tireoideano. Esses autores postularam que os hormônios tireoideanos apresentam pouca importância na modulação dos níveis de adiponectina no organismo. Uma vez que a maioria das disfunções tireoideanas estudadas consistiu em doenças auto-imunes, existe a possibilidade de as alterações da adiponectina haverem ocorrido, primariamente, devido a fatores não relacionados diretamente ao estado tireoideano.

Alguns autores relataram uma correlação negativa entre adiponectina sérica e o percentual de massa de gordura corporal em humanos^{222,331}. Houve correlação negativa, também, entre adiponectina sérica e gordura intra-abdominal^{240,332} e massa de tecido adiposo visceral³³³. Em ratos, a concentração sérica de adiponectina correlacionou-se negativamente com a massa de tecido adiposo branco total³²⁰ ou com a massa de peso corporal³¹⁴. No nosso trabalho os animais hipotireoideos apresentaram uma intensa redução de ganho de peso durante o tratamento com metimazol (Figura 31). Além disto, os adipócitos dos animais hipotireoideos são menores (Figura 33 e Figura 34), o que tem sido relatado estar correlacionado com aumento da secreção de adiponectina. Nos animais hipertireoideos, que também apresentaram menor tamanho dos adipócitos, a secreção de adiponectina foi provavelmente contrabalanceada por outros fatores gerados por esse estado tireoideano.

Nesse estudo a expressão de adiponectina não foi modulada pelo estado tireoideano no TAM (Figura 36 A). Como anteriormente comentado, em cultura primária de adipócitos de tecido adiposo marrom de camundongos, o tratamento com T4 aumenta a expressão e secreção de adiponectina³²¹. In vitro, o efeito direto demonstrado para os hormônios tireoideanos nesse tecido pode estar sendo contrabalanceado por efeitos indiretos provocados pelo estado tireoideano.

O estado de hipotireoidismo não afetou a expressão do mRNA de adiponectina em tecido adiposo branco inguinal e epididimal de ratos (Figura 36). Portanto o aumento de adiponectina sérica muito provavelmente não se deve a maior transcrição do gene de adiponectina. Ao serem colocados no sistema *in vitro*, os explantes dos animais hipotireoideos responderam também com maior secreção *in vitro* e sem alterações do mRNA após 24 horas de incubação (Figura 37 e Figura 38). Assim, houve um paralelismo entre a secreção de adiponectina e a expressão do seu mRNA *in vivo* e *in vitro*. Em conjunto, o aumento da adiponectina sérica e a maior secreção de explantes destes tecidos sem alterações de mRNA, sugerem que o tecido adiposo de animais hipotireoideos apresentariam modificações pós-transcricionais que levariam a maior taxa de secreção de adiponectina.

Entretanto, nos hipertireoideos a regulação da secreção de adiponectina e do seu mRNA parece ser específica do depósito de tecido adiposo analisado e mais complexa. As concentrações séricas não se alteram (Figura 35 A), assim como a secreção *in vitro* do tecido visceral (Figura 38 A) e houve pequena redução no tecido inguinal (Figura 37 A). Mais interessante ainda é o fato do mRNA de adiponectina estar aumentado no tecido inguinal e reduzido no epididimal, tanto *in vivo* (Figura 36 B e C) como depois de 24 horas no meio de incubação (Figura 37B e Figura 38 B). *In vivo* as variações opostas de mRNA dos tecidos adiposos distintos poderia resultar em não alteração da produção, refletida na concentração sérica normal. Porém, *in vitro* a falta de paralelismo entre as variações do mRNA e da secreção, sugerem alterações múltiplas no controle da transcrição e da secreção da adiponectina na situação do hipertireoidismo.

No que diz respeito à concentração sérica de leptina, verificamos uma diminuição desta nos animais hipertireoideos, o que não foi verificado nos animais

hipotireoideos (Figura 35 B). Já foi demonstrado anteriormente que o hipertireoidismo diminui a concentração de leptina, enquanto o hipotireoidismo aumentou a concentração de leptina^{313,314}.

Em humanos, uma série de autores afirma que a concentração sangüínea de leptina não apresenta alterações significativas em função de variações do estado tireoideano de seres humanos^{302,303,304,305,306}. Entretanto, outros pesquisadores demonstraram a ocorrência de níveis de leptina baixos^{307,308,309} ou altos³¹⁰, em pacientes hipertireoideos, e aumento da concentração de leptina^{305,307} ou redução³¹¹ em pacientes hipotireoideos.

Os explantes de tecido adiposo branco inguinal mostraram secreção de leptina diminuída tanto no grupo hipotireoideo, quanto no grupo hipertireoideo (Figura 39 A). Já os explantes epididimais mostraram secreção diminuída apenas nos animais hipertireoideos (Figura 39 B). Desta forma, a secreção de leptina pelos explantes dos animais hipertireoideos seguiu o mesmo padrão da concentração sérica de leptina, enquanto o explante de TAB Inguinal dos animais hipotireoideos apresentou uma diminuição da secreção de leptina que não repercutiu *in vivo*, já que a concentração sérica de leptina dos ratos hipotireoideos se manteve inalterada.

6. CONCLUSÕES

O hormônio tireoideano regula de forma tecido específica a expressão de mRNA de adiponectina, sem alterar a sua secreção no tecido adiposo branco.

As alterações de secreção e expressão de mRNA de adiponectina obtidas com as disfunções tireoideanas devem ser decorrentes de efeitos extra-tecido adiposo.

O animal hipotireoideo secreta mais adiponectina provavelmente por mecanismos que não envolvem a transcrição de gene de adiponectina.

O hipertireoidismo afeta de forma diferencial os depósitos subcutâneo e visceral, tanto em relação à secreção quanto à expressão gênica de adiponectina.

O hormônio tireoideano é um regulador direto da secreção de leptina em explantes de tecido adiposo.

7. REFERÊNCIAS

¹ PEETERS, R. P.; VAN DER DEURE, W. M.; VISSER, T. J. Genetic variation in thyroid hormone pathway genes; polymorphisms in the TSH receptor and the iodothyronine deiodinases. **Eur. J. Endocrinol.** v. 155, n. 5, p. 655-662, 2006.

² TSAO, T. S.; LODISH, H. F.; FRUEBIS, J. ACRP30, a new hormone controlling fat and glucose metabolism. **Eur. J. Pharmacol.** v. 440, n. 2-3, p. 213-221, 2002.

³ FRÜHBECK, G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. **Biochem. J.** v. 393, p. 7-20, 2006.

⁴ FLIER, J. S. What's in a Name? In Search of Leptin's Physiologic Role. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 83, n. 5, p. 1407-1413, 1998.

⁵ WOLFE, B. E.; JIMERSON, D. C.; ORLOVA, C.; MANTZOROS, C. S. Effect of dieting on plasma leptin, soluble leptin receptor, adiponectin and resistin levels in healthy volunteers. **Clin. Endocrinol. (Oxf)** v. 61, n. 3, p. 332-338, 2004.

⁶ ESCOBAR-MORREALE, H. F.; DEL REY, F. E.; ESCOBAR, G. M. Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat. **Endocrinology** v. 138, p. 4485-4488, 1997.

⁷ FRUEBIS, J.; TSAO, T. S.; JAVORSCHI, S.; EBBETS-REED, D.; ERICKSON, M. R.; YEN, F. T.; BIHAIN, B. E.; LODISH, H. F. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** v. 98, p. 2005-2010, 2001.

⁸ TOMAS, E.; TSAO, T. S.; SAHA, A. K.; MURREY, H. E.; ZHANG, C. C.; ITANI, S. I.; LODISH, H. F.; RUDERMAN, N. B. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** v. 99, n. 25, p. 16309-16313, 2002.

⁹ YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; MINOKOSHI, Y.; ITO, Y.; WAKI, H.; UCHIDA, S.; YAMASHITA, S.; NODA, M.; KITA, S.; UEKI, K.; ETO, K.; AKANUMA, Y.; FROGUEL, P.; FOUFELLE, F.; FERRE, P.; CARLING, D.; KIMURA, S.; NAGAI, R.; KAHN, B. B.; KADOWAKI, T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein Kinase. **Nat. Med.** v. 8, n. 11, p. 1288-1295, 2002.

¹⁰ QI, Y.; TAKAHASHI, N.; HILEMAN, S. M.; PATEL, H. R.; BERG, A. H.; PAJVANI, U. B.; SCHERER, P. E.; AHIMA, R. S. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. **Nat. med.** v. 10, p. 524-529, 2004.

¹¹ VASSEUR, F.; LEPRETRE, F.; LACQUEMEANT, C.; FROGUEL, P. The genetics of adiponectin. **Curr. Diab. Rep.** v. 3, n. 2, p. 151-158, 2003.

¹² MATSUZAWA, Y.; FUNAHASHI, T.; KIHARA, S.; SHIMOMURA, I. Adiponectin and Metabolic Syndrome. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** v. 24, n. 1, p. 29-33, 2004.

¹³ YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; WAKI, H.; TERAUCHI, Y.; KUBOTA, N.; HARA, K.; MORI, Y.; IDE, T.; MURAKAMI, K.; TSUBOYAMA-KASAOKA, N.; EZAKI, O.; AKANUMA, Y.; GAVRILOVA, O.; VINSON, C.; REITMAN, M. L.; KAGECHIKA, H.; SHUDO, K.; YODA, M.; NAKANO, Y.; TOBE, K.; NAGAI, R.; KIMURA, S.; TOMITA, M.; FROGUEL, P.; KADOWAKI, T.; The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. **Nat. med.** v. 7, p. 941-946, 2001.

¹⁴ MAEDA, N.; SHIMOMURA, I.; KISHIDA, K.; NISHIZAWA, H.; MATSUDA, M.; NAGARETANI, H.; FURUYAMA, N.; KONDO, H.; TAKAHASHI, M.; ARITA, Y.; KOMURO, R.; OUCHI, N.; KIHARA, S.; TOCHINO, Y.; OKUTOMI, K.; HORIE, M.; TAKEDA, S.; AOYAMA, T.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. **Nat. Med.** v. 8, p. 731-737, 2002.

¹⁵ MASAKI, T.; CHIBA, S.; YASUDA, T.; TSUBONE, T.; KAKUMA, T.; SHIMOMURA, I.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; YOSHIMATSU, H. Peripheral, but not central, administration of adiponectin reduces visceral adiposity and upregulates the expression of uncoupling protein in agouti yellow (Ay/a) obese mice. **Diabetes** v. 52, n. 9, p. 2266-2273, 2003.

¹⁶ DUNTAS, L. H. Thyroid disease and lipids. **Thyroid** v. 12, n. 4, p. 287-293, 2002.

¹⁷ KNUDSEN, N.; LAURBERG, P.; RASMUSSEN, L. B.; BULOW, I.; PERRILD, H.; OVESEN, L.; JORGENSEN, T. Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 90, n. 7, p. 4019-4024, 2005.

¹⁸ HAUNER, H.; ENTENMANN, G.; WABITSCH, M.; GAILLARD, D.; AILHAUD, G.; NEGREL, R.; PFEIFFER, E. F. Promoting effect of glucocorticoids on the differentiation of human adipocyte precursor cells cultured in a chemically defined medium. **J. Clin. Invest.** v. 84, p. 1663-1670, 1989.

¹⁹ DARIMONT, C.; GAILLARD, D.; AILHAUD, G.; NEGREL, R. Terminal differentiation of mouse preadipocyte cells: adipogenic and antimitogenic role of triiodothyronine. **Mol. Cell. Endocrinol.** v. 98, p. 67–73, 1993.

²⁰ VIGUERIE, N.; LANGIN, D. Effect of thyroid hormone on gene expression. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.** v. 6, p. 377-381, 2003.

²¹ KIMURA, E. T. Glândula tireóide. In: AIRES, M. M. (Org). **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan S.A., 2008. 3ª ed., p. 991-1014.

²² GALTON, V. A. The role of thyroid hormone in amphibian metamorphosis. **T. E. M.** v. 3, p. 96-100, 1992.

²³ BATES, J. M.; ST. GERMAIN, D. L.; GALTON, V. A. Expression profiles of the three iodothyronine deiodinases, D1, D2, and D3, in the developing rat. **Endocrinology** v. 140, p. 844-851, 1999.

²⁴ FIELD, J. B. Thyrotropin; mechanism of action thyrotropin and other thyroid growth factors. In: BRAVERMAN, L. E.; UTIGER, R. D. (Org). **The thyroid – a fundamental and clinical text**. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1991. 6th ed., p. 276-286.

²⁵ CLIFTON, D. K. The anterior pituitary. In: PATTON, H. D.; FUCHS, A. F.; HILLE, B.; SCHER, A. M.; STEINER, R. (Org). **Textbook of physiology**. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1989. 21st ed., p. 1202-1214.

²⁶ OJEDA, S. R.; MCCANN, S. M. The anterior pituitary and hypothalamus. In: GRIFFIN, J. E.; OJEDA, S. R. (Org). **Textbook of endocrine physiology**. New York: Oxford University Press, 2004. 5th ed., p. 128-162.

²⁷ NUNES, M. T. O hipotálamo endócrino. In: AIRES, M. M. (Org). **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan S. A., 2008. 3ª ed., p. 930-951.

²⁸ THORNER, M. O.; VANCE, M. L.; LAWS, E. R.; HORVATH, E.; KOVACS, K. The anterior pituitary. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W. (Org) **Williams textbook of endocrinology**. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1998. 9th ed., p. 249-340.

²⁹ DOU, Y. L.; TANG, F. Effect of environmental and hypothalamic factors on thyrotropin secretion in the hypothyroid rat. **Clin. Exper. Pharmacol. Physiol.** v. 20, p. 65-70, 1993.

³⁰ SCALON, M. F. Neuroendocrine control of thyrotropin secretion. In: BRAVERMAN, L. E.; UTIGER, R. D. (Org). **The thyroid – a fundamental and clinical text**. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1991. 6th ed., p. 230-256.

³¹ BAUER, K. Inactivation of thyrotropin-releasing-hormone (TRH) by the hormonally regulated TRH-degrading ectoenzyme. A potential regulator of TRH signals? **T. E. M.** v. 6, p. 101-105, 1995.

³² WONDISFORD, F.E.; MAGNER, J. A.; WEINTRAUB, B. D. Thyrotropin; chemistry and biosynthesis of thyrotropin. In: BRAVERMAN, L. E.; UTIGER, R. D. (Org). **The thyroid – a fundamental and clinical text**. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1991. 6th ed., p. 257-267.

³³ LARSEN, P. R.; DAVIES, T. F.; HAY, I. D. The Thyroid gland. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. (Org). **Williams textbook of endocrinology**. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1998. 9th ed., p. 389-515.

³⁴ NUNES, M. T. A glândula hipófise. In: AIRES, M. M. (Org). **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan S. A., 2008. 3^a Ed, p. 952-979.

³⁵ REICHLIN, S. Neuroendocrinology. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W. (Org). **Williams textbook of endocrinology**. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1992. 8th ed., p. 135-219.

³⁶ CHIN, W. W.; SHUPNIK, M. A.; ROSS, D. S.; HABENER, J. F.; RIDGWAY, E. C. Regulation of the α and thyrotropin β -subunit messenger ribonucleic acids by thyroid hormones. **Endocrinology** v. 116, p. 873-878, 1985.

³⁷ NIKRODHANOND, A. A.; ORTIGA-CARVALHO, T. M.; SHIBUSAWA, N.; HASHIMOTO, K.; LIAO, X. H.; REFETOFF, S.; YAMADA, M.; MORI, M.; WONDISFORD, F. E. Dominant Role of Thyrotropin-releasing Hormone in the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis. **J. Biol. Chem.** v. 281, n. 8, p. 5000-5007, 2006.

³⁸ MORLEY, J. E.; SAWIN, C. T.; CARLSON, H. E.; LONGCOPE, C.; HERSHMAN, J. M. The relationship of androgen to the thyrotropin and prolactin responses to thyrotropin-releasing hormone in hypogonadal and normal men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 52, p. 173-176, 1981.

³⁹ ARISAWA, M.; SNYDER, G. D.; MCCANN, S. M. Effects of substance P on thyrotropin secretion from pituitary gland in the rat. **Peptides** v. 10, p. 763-766, 1989.

⁴⁰ PAZOS-MOURA, C. C.; MOURA, E. G.; RETTORI, V.; POLAK, J.; MCCANN, S. Role of Neuromedin B in the in vitro thyrotropin release in response to thyrotropin-release-hormone (TRH) from anterior pituitaries of eu-, hipo and hiperthyroids rats. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** v. 211, p. 353-358, 1996.

⁴¹ ORTIGA-CARVALHO, T. M.; POLAK, J.; MCCANN, S.; PAZOS-MOURA, C. C. Effect of thyroid hormones on pituitary neuromedin B (NB) and possible interaction between thyroid hormones and NB on thyrotropin secretion. **Regul. Pept.** v. 67, p. 47-53, 1996.

⁴² DAI, G.; LEVY, O.; CARRASCO, N. Cloning and characterization of the thyroid iodine transporter. **Nat.** v. 379, p. 458-460, 1996.

⁴³ COYLE, B.; REARDON, W.; HERBRICK, J. A.; TSUI, L. C.; GAUSDEN, E.; LEE, J.; COFFEY, R.; GRUETERS, A.; GROSSMAN, A.; PHELPS, P. D.; LUXON, L.; KENDALL-TAYLOR, P.; SCHERER, S. W.; TREMBATH, R. C. Molecular analysis of the PDS gene in Pendred syndrome (sensorineural hearing loss and goitre). **Human Mol. Gen.** v. 7, p. 1105-1112, 1998.

⁴⁴ GORIN, Y.; OHAYON, R.; CARVALHO, D. P.; DÈME, D.; LESENEY, A. M.; HAYE, B.; KANIEWSKI, J.; POMMIER, J.; VIRION, A.; DUPUY, C. Solubilization and Characterization of a Thyroid Ca²⁺-Dependent and NADPH-Dependent K₃Fe(CN)₆ Reductase Relationship with the NADPH-Dependent H₂O₂-Generating System. **Eur. J. Biochem.** v. 240, n. 3, p. 807-814, 1996.

⁴⁵ DUMONT, J. E.; VASSANT, G. Thyroid regulation. In: DEGROOT, L. J. (Org). **Endocrinology** vol 1. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1995. 3rd ed., p. 543-559.

⁴⁶ DAVIS, P. J.; SPAULDING, S. W.; GREGERMAN, R. I. The three thyroxine-binding proteins in rat serum: binding capacities and effects of binding inhibitors. **Endocrinology** v. 87, p. 978-986, 1970.

⁴⁷ JANSEN, J.; FRIESEMA, E. C.; MILICI, C.; VISSER, T. J. Thyroid hormone transporters in health and disease. **Thyroid** v. 15, p. 757-768, 2005.

⁴⁸ GAO, B.; HAGENBUCH, B.; KULLAK-UBLICK, G. A.; BENKE, D.; AGUZZI, A.; MEIER, P. J. Organic anion-transporting polypeptides mediate transport of opioid peptides across blood-brain barrier. **J Pharmacol. Exp. Ther.** v. 294, p. 73-79, 2000.

-
- ⁴⁹ SUGIYAMA, D.; KUSUHARA, H.; TANIGUCHI, H.; ISHIKAWA, S.; NOZAKI, Y.; ABURATANI, H.; SUGIYAMA, Y. Functional characterization of rat brain-specific organic anion transporter (Oatp14) at the blood-brain barrier: high affinity transporter for thyroxine. **J. Biol. Chem.** v. 278, p. 43489–43495, 2003.
- ⁵⁰ FRIESEMA, E. C.; GANGULY, S.; ABDALLA, A.; MANNING FOX, J. E.; HALESTRAP, A. P.; VISSER, T. J. Identification of monocarboxylate transporter 8 as a specific thyroid hormone transporter. **J. Biol. Chem.** v. 278, p. 40128–40135, 2003.
- ⁵¹ DUMITRESCU, A. M.; LIAO, X. H.; BEST, T. B.; BROCKMANN, K.; REFETOFF, S. A novel syndrome combining thyroid and neurological abnormalities is associated with mutations in a monocarboxylate transporter gene. **Am. J. Hum. Gen.** v. 74, p. 168–175, 2004.
- ⁵² CHANOINE, J. P.; BRAVERMAN, L. E.; FARWELL, A. P.; SAFRAN M.; ALEX, S.; DUBORD, S.; LEONARD J, L.; The thyroid gland is a major source of circulating T3 in the rat. **J Clin Invest** v. 91, p. 2709-2713, 1993.
- ⁵³ BIANCO, A. C.; SALVATORE, D.; GEREKEN, B.; BERRY, M. J.; LARSEN, P. R. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. **Endocrine Rev.** v. 23, p. 38-89, 2002.
- ⁵⁴ MORENO, M.; BERRY, M. J.; HORST, C.; THOMA, R.; GOGLIA, F.; HARNEY, J. W.; LARSEN, P. R.; VISSER, T. J. Activation and inactivation of thyroid hormone by type I iodothyronine deiodinase. **FEBS Lett.** v. 344, p. 143-146, 1994.
- ⁵⁵ MORENO, M.; DE LANGE, P.; LOMBARDI, A.; SILVESTRI, E.; LANNI, A.; GOGLIA, F. Metabolic Effects of Thyroid Hormone Derivatives. **Thyroid** v. 18, n. 2, p. 239-253, 2008
- ⁵⁶ KÖHRE, J. Thyroid hormone transporters in health and disease: advances in thyroid hormone deiodination. **Best. Prac. Res. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 21, p. 173-191, 2007.
- ⁵⁷ CHIN, W. W.; YEN, P. M. Molecular mechanisms of nuclear thyroid hormone action. In: BRAVERMAN, L. E. (Org). **Diseases of the thyroid**. New Jersey: Humana Press, 1997. p. 1-15.
- ⁵⁸ WILLIAMS, G. Cloning and characterization of two novel thyroid hormone receptors b isoforms. **Mol. Cell. Biol.** v. 20, p. 8329–8342, 2000.

-
- ⁵⁹ MACCHIA, P. E.; TAKEUCHI, Y.; KAWAI, T.; CUA, K.; GAUTHIER, K.; CHASSANDE, O.; SEO, H.; HAYASHI, Y.; SAMARUT, J.; MURATA, Y.; WEISS, R. E.; REFETOFF, S. Increased sensitivity to thyroid hormone in mice with complete deficiency of thyroid hormone receptor α . **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** v. 98, n. 1, p. 349-354, 2001.
- ⁶⁰ FORREST, D.; VENNSTRÖM, B. Functions of thyroid hormone receptors in mice. **Thyroid** v. 10, n. 1, p. 41-52, 2000.
- ⁶¹ GLASS, C. Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers and heterodimers. **Endocrine Rev.** v. 15, n. 3, p. 391-407, 1994.
- ⁶² YEN, P. M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. **Physiol. Rev.** v. 81, p. 1097-1142, 2001.
- ⁶³ JAMESON, L. J. Mechanisms of thyroid hormone action In: DEGROOT, L.; JAMESON, J. L. (Org). **Endocrinology**. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 2001. 4th ed., p. 1327-1344.
- ⁶⁴ BARRA, G. B.; VELASCO, L. F. R.; PESSANHA, R. P.; CAMPOS, A. M.; MOURA, F. N.; DIAS, S. M. G.; POLIKARPOV, I.; RIBEIRO, R. C. J.; SIMEONI, L. A.; NEVES, F. A. R. Mecanismo molecular da ação do hormônio tireoideano. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v.48, n.1, 2004.
- ⁶⁵ IZUMO, S.; MAHDAVI, V. Thyroid hormone receptor alpha isoforms generated by alternative splicing differentially activate myosin HC gene transcription. **Nature** v.334, n. 6182, p. 539-542, 1988. [Erratum in: **Nature** v. 335, n. 6192, p. 744, 1988.
- ⁶⁶ LEONARD, J. L.; FARWELL, A. P. Cytoskeletal actions of iodothyronines. **Hot Thyroidology**, 2006. Disponível em www.hotthyroidology.com Acesso em 3 de Janeiro de 2009.
- ⁶⁷ MIYAJIMA, N.; HORIUCHI, R.; SHIBUYA, Y.; FUKUSHIGE, S.; MATSUBARA, K.; TOYOSHIMA, K.; YAMAMOTO, T. Two erbA homologs encoding proteins with different T3 binding capacities are transcribed from opposite DNA strands of the same genetic locus. **Cell** v. 57, p. 31-39, 1989.
- ⁶⁸ CHAWLA, A.; LAZAR, M. A. Induction of Rev-ErbA alpha, an orphan receptor encoded on the opposite strand of the alpha-thyroid hormone receptor gene, during adipocyte differentiation. **J. Biol. Chem.** v. 268, p. 16265-16269, 1993.

⁶⁹ SCHWARTZ, H. L.; LAZAR, M. A.; OPPENHEIMER, J. H. Widespread distribution of immunoreactive thyroid hormone beta2 receptor (TR β 2) in the nuclei of extrapituitary rat tissues. **J. Biol. Chem.** v. 269, n. 40, p. 24777-24782, 1994.

⁷⁰ MANZANO, J.; MORTE, B.; SCANLAN, T. S.; BERNAL, J. Differential effects of triiodothyronine and the thyroid hormone receptor β -specific agonist GC-1 on thyroid hormone target genes in the brain. **Endocrinology** v. 144, n. 12, p. 5480-5487, 2003.

⁷¹ CHASSANDE, O.; FRAICHARD, A.; GAUTHIER, K.; FLAMANT, F.; LEGRAND, C.; SAVATIER, P.; LAUDET, V.; SAMARUT, J. Identification of transcripts initiated from an internal promoter in the c-erbA alpha locus that encode inhibitors of retinoic acid receptor-alpha and triiodothyronine receptor activities. **Mol. Endocrinol.** v. 11, p. 1278-1290, 1997.

⁷² BRENT, G.; MOORE, D.; LARSEN, P. Thyroid hormone regulation of gene expression. **Ann. Rev. Physiol.** v. 53, p. 17-35, 1991.

⁷³ FONDELL, J. D.; ROY, A. L.; ROEDER, R. G. Unliganded thyroid hormone receptors inhibits formation of a functional preinitiation complex: implications for active repression. **Gen. Develop.** v. 7, n. 7B, p. 1400-1410, 1993.

⁷⁴ FLAMANT, F.; POGUET, A. L.; PLATEROTI, M.; CHASSANDE, O.; GAUTHIER, K.; STREICHENBERGER, N.; MANSOURI, A.; SAMARUT, J. Congenital hypothyroid Pax8-/- mutant mice can be rescued by inactivating the TR α gene. **Mol. Endocrinol.** v. 16, n. 1, p. 24-32, 2002.

⁷⁵ BURKE, L. J.; BANIAHMAD, A. Co-repressors. **FASEB J.** v. 14, n. 13, p. 1876-1888, 2000.

⁷⁶ ZHANG, J.; LAZAR, M. A. The mechanism of action of thyroid hormones. **Ann. Rev. Physiol.** v. 62, p. 439-466, 2000.

⁷⁷ YEN, P. M.; ANDO, S.; FENG, X.; LIU, Y.; MARUVADA, P.; XIA, X. Thyroid hormone action at the cellular, genomic and target gene levels. **Mol. Cell. Endocrinol.** v. 246, p. 121-127, 2006.

⁷⁸ SILVA, J. E.; DICK, T. E.; LARSEN, P. R. The contribution of local tissue thyroxine monodeiodination to the nuclear 3,5,3'-triiodothyronine in pituitary, liver, and kidney of euthyroid rats. **Endocrinology** v. 103, p. 1196-1207, 1978.

⁷⁹ SILVA, J. E.; LARSEN, P. R. Contributions of plasma triiodothyronine and local thyroxine monodeiodination to triiodothyronine to nuclear triiodothyronine receptor saturation in pituitary, liver, and kidney of hypothyroid rats. Further evidence relating saturation of pituitary nuclear triiodothyronine receptors and the acute inhibition of thyroid-stimulating hormone release. **J. Clin. Invest.** v. 61, p. 1247-1259, 1978.

⁸⁰ BIANCO, A. C.; SILVA, J. E. Nuclear 3,5,3'-triiodothyronine (T3) in brown adipose tissue: receptor occupancy and sources of T3 as determined by in vivo techniques. **Endocrinology** v. 120, p. 55-62, 1987.

⁸¹ SELMI-RUBY, S.; ROUSSET, B. Analysis of the functional state of T3 nuclear receptors expressed in thyroid cells. **Mol. Cell. Endocrinol.** v. 119, p. 95-104, 1996.

⁸² DAVIS, P. J.; DAVIS, F. B. Contemporary endocrinology. In: BRAVERMAN, L. E. (Org). **Diseases of the thyroid**. New Jersey: Humana Press, 1997. p. 17-34.

⁸³ DAVIS, P. J.; LEONARD, J. L.; DAVIS, F. B. Mechanism of nongenomic actions of thyroid hormone. **Front. Neuroendocrinol.** v. 29, p. 211-218, 2008.

⁸⁴ BAUMANN, C. T.; MARUVADA, P.; HAGER, G. L.; YEN, P. M. Nuclear cytoplasmic shuttling by thyroid hormone receptors. multiple protein interactions are required for nuclear retention. **J. Biol. Chem.** v. 276, p. 11237-11245, 2001.

⁸⁵ STOREY, N. M.; GENTILE, S.; ULLAH, H.; RUSSO, A.; MUESSEL, M.; ERXLEBEN, C.; ARMSTRONG, D. L. Rapid signaling at the plasma membrane by a nuclear receptor for thyroid hormone. **Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.** v. 103, p. 5197-5201, 2006.

⁸⁶ MOELLER, L. C.; DUMITRESCU, A. M.; REFETOFF, S. Cytosolic action of thyroid hormone leads to induction of hypoxia-inducible factor-1alpha and glycolytic genes. **Mol. Endocrinol.** v. 19, p. 2955-2963, 2005.

⁸⁷ HIROI, Y.; KIM, H. H.; YING, H.; ET AL. Rapid nongenomic actions of thyroid hormone. **Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.** v. 103, p. 14104-14109, 2006.

⁸⁸ WRUTNIAK-CABELLO, C.; CASAS, F.; CABELLO, G. Thyroid hormone action in mitochondria. **J. Mol. Endocrinol.** v. 26, p. 67–77, 2001.

⁸⁹ CASAS, F.; DAURY, L.; GRANDEMANGE, S.; BUSSON, M.; SEYER, P.; HATIER, R.; CARAZO, A.; CABELLO, G.; WRUTNIAK-CABELLO, C. Endocrine regulation of mitochondrial activity: involvement of truncated RXRalpha and c-Erb Aalpha1 proteins. **FASEB J.** v. 17, p. 426–436, 2003.

⁹⁰ FARWELL, A. P.; DUBORD-TOMASETTI, S. A.; PIETRZYKOWSKI, A. Z.; LEONARD, J. L. Regulation of cerebellar neuronal migration and neurite outgrowth by thyroxine and 3,30,50-triiodothyronine, **Brain Res. Dev. Brain Res.** v. 154, p. 121–135, 2005.

⁹¹ BERGH, J. J.; LIN, H. Y.; LANSING, L.; MOHAMED, S. N.; DAVIS, F. B.; MOUSA, S.; DAVIS, P. J. Integrin alphaVbeta3 contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis. **Endocrinology** v. 146, n. 7, p. 2864-2871, 2005.

⁹² DAVIS, P. J.; SHIH, A.; LIN, H. Y.; MARTINO, L. J.; DAVIS, F. B.; Thyroxine promotes association of mitogen-activated protein kinase and nuclear thyroid hormone receptor (TR) and causes serine phosphorylation of TR. **J. Biol. Chem.** v. 75, n. 2000, p. 38032–38039, 1999.

⁹³ LANNI, A.; MORENO, M.; LOMBARDI, A.; GOGLIA, F. Thyroid hormone and uncoupling proteins. **FEBS Letters** v. 543, n. 1-3, p. 5-10, 2003.

⁹⁴ GOODMAN, H. M. Oxidative Metabolism and Thermogenesis. In: Goodman, H. M. (Org). **Basic Medical Endocrinology**. Amsterdam: Academic Press, 2003. 3rd ed., p. 98-100.

⁹⁵ BIANCO, A. C.; MAIA, A. L.; DA SILVA, W. S.; CHRISTOFFOLETE, M. A. Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure. **Biosci. Rep.** v. 25, n. 3-4, p. 191-208, 2005.

⁹⁶ 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** v. 136, n. 2, p. 629-639, 1995.

⁹⁷ 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. **J. Clin. Invest.** v. 87, n. 1, p. 125-132, 1991.

-
- ⁹⁸ O'SHEA, P. J.; BASSETT, J. H.; SRISKANTHARAJAH, S.; YING, H.; CHENG, S. Y.; WILLIAMS, G. R. Contrasting skeletal phenotypes in mice with an identical mutation targeted to thyroid hormone receptor alpha1 or beta. **Mol. Endocrinol.** v. 19, n. 12, p. 3045-3059, 2005.
- ⁹⁹ FREAKE, H. C.; OPPENHEIMER, J. H. Thermogenesis and thyroid function. **Ann. Rev. Nutr.** v. 15, p. 263-291, 1995.
- ¹⁰⁰ SANTINI, F.; MARSILI, A.; MAMMOLI, C.; VALERIANO, R.; SCARTABELLI, G.; PELOSINI, C.; GIANNETTI, M.; CENTONI, R.; VITTI, P.; PINCHERA, A. Serum concentrations of adiponectin and leptin in patients with thyroid dysfunctions. **J. Clin. Invest.** v. 27, n. 2, p. RC5-7, 2004.
- ¹⁰¹ 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** v. 43, n. 10, p. 1185-1189, 1994.
- ¹⁰² 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.** v. 27, n. 6, p. 475-483, 1997.
- ¹⁰³ DIMITRIADIS, G.; LEIGHTON, B.; PARRY-BILLINGS, M.; WEST, D.; NEWSHOLME, E. A. Effects of hypothyroidism on the sensitivity of glycolysis and glycogen synthesis to insulin in the soleus muscle of the rat. **Biochem. J.** v. 257, n. 2, p. 369-373, 1989.
- ¹⁰⁴ DIMITRIADIS, G.; MARATOU, E.; ALEVIZAKI, M.; BOUTATI, E.; PSARA, K.; PAPASTERIADES, C.; RAPTIS, S. A. Thyroid hormone excess increases basal and insulin-stimulated recruitment of GLUT3 glucose transporters on cell surface. **Horm. Metab. Res.** v. 37, n. 1, p. 15-20, 2005.
- ¹⁰⁵ 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.** v. 27, n. 6, p. 475-483, 1997.
- ¹⁰⁶ TORRANCE, C. J.; DEVENTE, J. E.; JONES, J. P.; DOHM, G. L. Effects of thyroid hormone on GLUT4 glucose transporter gene expression and NIDDM in rats. **Endocrinology** v. 138, n. 3, p. 1204-1214, 1997.

-
- ¹⁰⁷ CETTOUR-ROSE, P.; THEANDER-CARRILLO, C.; ASENSIO, C.; KLEIN, M.; VISSER, T. J.; BURGER, A. G.; MEIER, C. A.; ROHNER-JEANRENAUD, F. Hypothyroidism in rats decreases peripheral glucose utilisation, a defect partially corrected by central leptin infusion. **Diabetologia** v. 48, n. 4, p. 624-633, 2005.
- ¹⁰⁸ FUKUCHI, M.; SHIMABUKURO, M.; SHIMAJIRI, Y.; OSHIRO, Y.; HIGA, M.; AKAMINE, H.; KOMIYA, I.; TAKASU, N. Evidence for a deficient pancreatic beta-cell response in a rat model of hyperthyroidism. **Life Sci.** v. 71, n. 9, p. 1059-1070, 2002.
- ¹⁰⁹ DUBANIEWICZ, A.; KACIUBA-USCILKO, H.; NAZAR, K.; BUDOHOSKI, L. Sensitivity of the soleus muscle to insulin in resting and exercising rats with experimental hypo- and hyperthyroidism. **Biochem. J.** v. 263, n. 1, p. 243-247, 1989.
- ¹¹⁰ BECH, K.; DAMSBO, P.; ELDRUP, E.; BECK-NIELSEN, H.; RODER, M. E.; HARTLING, S. G.; VOLUND, A.; MADSBAD, S. beta-cell function and glucose and lipid oxidation in Graves' disease. **Clin. Endocrinol.** (Oxf) v. 44, n. 1, p. 59-66, 1996.
- ¹¹¹ GIMÉNEZ-PALOP, O.; GIMÉNEZ-PÉREZ, G.; MAURICIO, D.; BERLANGA, E.; POTAU, N.; VILARDELL, C.; ARROYO, J.; GONZÁLEZ-CLEMENTE, J. M.; CAIXÀS, A. Circulating ghrelin in thyroid dysfunction is related to insulin resistance and not to hunger, food intake or anthropometric changes. **Eur. J. Endocrinol.** v. 153, n. 1, p. 73-79, 2005.
- ¹¹² DESSEIN, P. H.; JOFFE, B. I.; STANWIX, A. E. Subclinical hypothyroidism is associated with insulin resistance in rheumatoid arthritis. **Thyroid** v. 14, n. 6, p. 443-446, 2004.
- ¹¹³ STANICKÁ, S.; VONDRA, K.; PELIKANNOVA, T.; VLCEK, P.; HILL, M.; ZAMRAZIL, V. Insulin sensitivity and counter-regulatory hormones in hypothyroidism and during thyroid hormone replacement therapy. **Clin. Chem. Lab. Med.** v. 43, n. 7, p. 715-720, 2005.
- ¹¹⁴ OWECKI, M.; NIKISCH, E.; SOWINSKI, J. Hypothyroidism has no impact on insulin sensitivity assessed with HOMA-IR in totally thyroidectomized patients. **Acta Clin. Belgica** v. 61, n. 2, p. 69-73, 2006.
- ¹¹⁵ FRYER, L. G.; HOLNESS, M. J.; SUGDEN, M. C. Selective modification of insulin action in adipose tissue by hyperthyroidism. **J. Endocrinol.** v. 154, n. 3, p. 513-522, 1997.
- ¹¹⁶ ARNER, P.; BOLINDER, J.; WENNLUND, A.; OSTMAN, J. Influence of thyroid hormone level on insulin action in human adipose tissue. **Diabetes** v. 33, n. 4, p. 369-375, 1984.

-
- ¹¹⁷ OHGUNI, S.; NOTSU, K.; KATO, Y. Correlation of plasma free thyroxine levels with insulin sensitivity and metabolic clearance rate of insulin in patients with hyperthyroid Graves' disease. *J. Inter. Med.* v. 34, n. 5, p. 339-341, 1995.
- ¹¹⁸ IKEDA, T.; FUJIYAMA, K.; HOSHINO, T.; TAKEUCHI, T.; MASHIBA, H.; TOMINAGA, M. Oral and intravenous glucose-induced insulin secretion in hyperthyroid patients. *Metabolism* v. 39, n. 6, p. 633-637, 1990.
- ¹¹⁹ KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* v. 89, p. 2548-2556, 2004.
- ¹²⁰ ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* v. 372, p. 425-432, 1994.
- ¹²¹ TRAYHURN, P.; BEE, J. H. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc. Nut. Soc.* v. 60, p. 329-339, 2001.
- ¹²² STUMVOLL, M.; HÄRING, H. Resistin and adiponectin – of mice and men. *Obes. Res.* v. 10, p. 1197-1199, 2002.
- ¹²³ BELTOWSKI, J. Adiponectin and resistin – new hormones of white adipose tissue. *Med. Sci. Monit.* v. 9, p. RA55-61, 2003.
- ¹²⁴ INGALLS, A. M.; DICKIE, M. M.; SNELL, G. D. Obese, a new mutation in the house mouse. *J. Hered.* v. 41, p. 317-318, 1950.
- ¹²⁵ COLEMAN, D. L. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia* v. 14, p. 141-148, 1978.
- ¹²⁶ COLEMAN, D. L. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia* v. 9, p. 294-298, 1973.
- ¹²⁷ TARTAGLIA, L. A.; DEMBSKI, M.; WENG, X.; DENG, N.; CULPEPPER, J.; DEVOS, R.; RICHARDS, G. J.; CAMPFIELD, L. A.; CLARK, F. T.; DEEDS, J. Identification and expression cloning of a leptin receptor. *Cell* v. 83, p. 1263-1271, 1995.

¹²⁸ FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature** v. 395, p. 763-770, 1998.

¹²⁹ HALAAS, J. L.; GAJIWALA, K. S.; MAFFEI, M.; COHEN, S. L.; CHAIT, B. T.; RABINOWITZ, D.; LALLONE, R. L.; BURLEY, S. K.; FRIEDMAN, J. M. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. **Science** v. 269, p. 543-546, 1995

¹³⁰ CAMPFIELD, L. A.; SMITH, F. J.; GUISEZ, Y.; DEVOS, R.; BURN P. Recombinant mouse OB protein: Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science** v. 269, p. 546-549, 1995.

¹³¹ MONTAGUE, C. T.; FAROOQI, I. S.; WHITEHEAD, J. P.; SOOS, M. A.; RAU, H.; WAREHAM, N. J.; SEWTER, C. P.; DIGBY, J. E.; MOHAMMED, S. N.; HURST, J. A.; CHEETHAM, C. H.; EARLEY, A. R.; BARNETT, A. H.; PRINS, J. B.; O'RAHILLY, S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. **Nature** v. 387, n. 6636, p. 903-908, 1997.

¹³² AUWERSX, J.; STAELS, B. Leptin. **Lancet** v. 351, p. 737-742, 1998.

¹³³ VAN HARMELEN, V.; REYNISDOTTIR, S.; ERIKSSON, P.; THÖRNE, A.; HOFFSTEDT, J.; LÖNNQVIST, F.; ARNER, P. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. **Diabetes** v. 47, p. 913-917, 1998.

¹³⁴ MANTZOROS, C. S.; MOSCHOS, S. J. Leptin: in search of role(s) in human physiology and pathophysiology. **Clin. Endocrinol. (Oxf)** v. 49, n. 5, p. 551-567, 1998.

¹³⁵ CHAN, J. L.; HEIST, K.; DE PAOLI, A. M.; VELDHUIS, J. D.; MANTZOROS, C. S. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. **J. Clin. Invest.** v. 111, n. 9, p. 1409-1421, 2003.

¹³⁶ SALADIN, R.; DE VOS, P.; GUERRE-MILLO, M.; LETURGE, A.; GIRARD, J.; STAELS, B.; AUWERX, J. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. **Nature** v. 377, p. 527-29, 1995.

¹³⁷ KORBONITS, M.; TRAINER, P. J.; LITTLE, J. A.; EDWARDS, R.; KOPELMAN, P. G.; BESSER, G. M.; SVEC, F.; GROSSMAN, A. B. Leptin levels do not change acutely with food administration in normal or obese subjects, but are negatively correlated with pituitary-adrenal activity. **Clin. Endocrinol.** v. 46, p.751-757, 1997.

-
- ¹³⁸ AHIMA, R. S.; PRABAKARAN, D.; MANTZOROS, C.; QU, D.; LOWELL, B.; MARATOS-FLIER, E.; FLIER, S. J. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature** v. 382, p. 250-252, 1996.
- ¹³⁹ FREDERICH, R. C.; LOLLMANN, B.; HAMANN, A.; NAPOLITANO-ROSEN, A.; KAHN, B. B.; LOWELL, B. B.; FLIER, J. S. Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. Impact of nutrition and obesity. **J. Clin. Invest.** v. 96, p.1658-1663, 1995.
- ¹⁴⁰ SAAD, M. E.; DAMANI, S.; GINGERICH, R. L.; RIAD-GABRIEL, M. G.; KHAN, A.; BOYADJIAN, R.; JINAGOUDA, S. J.; EL-TAWIL, K.; RUDE, R. K.; KAMDAR, V. Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 82, p. 579-584, 1997.
- ¹⁴¹ BLUM, W. F.; ENGLARO, P.; HANITSCH; JUUL, A.; HERTEL, N. T.; MÜLLER, J.; SKAKKEBÆK, N. E.; HEIMAN, M. L.; BIRKETT, M.; ATTANASIO, A. M.; KIESS, W.; RASCHER, W. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 82, p. 2904-2910, 1997.
- ¹⁴² BRANDEBOURG, T. D.; BOWN, J. L.; BEN-JONATHAN, N. Prolactin upregulates its receptors and inhibits lipolysis and leptin release in male rat adipose tissue. **Biochem. Bioph. Res. Comm.** v.357, p. 408–413, 2007.
- ¹⁴³ DEGAWA-YAMAUCHI, M.; MOSS, K. A.; BOVENKERK, J. E.; SHANKAR, S. S.; MORRISON, C. L.; LELLIOT, C. J.; VIDAL-PUIG, A.; JONES, R.; CONSIDINE, R. V. Regulation of Adiponectin expression in human adipocytes: effect of adiposity, glucocorticoids, and tumor necrosis factor alpha. **Obes. Res.** v. 13, n. 4, p. 662-669, 2005.
- ¹⁴⁴ KLIMCAKOVA, E.; MORO, C.; MAZZUCOTELLI, A.; LOLME, K.; VIGUERIE, N.; GALITZKY, J.; STICH, V.; LANGIN, D. Profiling of adipokines secreted from human subcutaneous adipose tissue in response to PPAR agonists. **Biochem. Bioph. Res. Comm.** v. 358, p. 897–902, 2007
- ¹⁴⁵ DE VOS, P.; SALADIN, R.; AUWERX, J.; STAELS, B. Induction of ob gene expression by corticosteroids is accompanied by body weight loss and reduced food intake. **J. Biol. Chem.** v. 270, p. 15958–61, 1995.
- ¹⁴⁶ KALLEN, C. B.; LAZAR, M. A. Antidiabetic thiazolidinediones inhibit leptin (ob) gene expression in 3T3-L1 dipocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** v. 93, p. 5793–96, 1996.

-
- ¹⁴⁷ REUL, B. A.; ONGEMBA, L. N.; POTTIER, A. M.; HENQUIN, J. C.; BRICHARD, S. M. Insulin and insulin-like growth factor 1 antagonize the stimulation of ob gene expression by dexamethasone in cultured rat adipose tissue. **Biochem. J.** v. 324, p. 605-610, 1997.
- ¹⁴⁸ MURAKAMI, T.; IIDA, M.; SHIMA, K. Dexamethasone regulates obese expression in isolated rat adipocytes. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 214, p. 126-127, 1995.
- ¹⁴⁹ SLIEKER, L. J.; SLOOP, K. W.; SURFACE, P. L.; KRIAUCIUNAS, A.; LAQUIER, F.; MANETTA, J.; BUE-VALLESKEY, J.; STEPHENS, T. W. Regulation of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. **J. Biol. Chem.** v. 271, p. 5301-5304, 1996.
- ¹⁵⁰ RENTSCH, J.; CHIESI, M. Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. **FEBS Lett.** v. 379, p. 55-59, 1996.
- ¹⁵¹ FAIN, J. N.; BUEHRER, B.; TICHANSKY, D. S.; MADAN, A. K. Regulation of adiponectin release and demonstration of adiponectin mRNA as well as release by the non-fat cells of human omental adipose tissue. **Int. J. Obes.** v. 32, p. 429-435, 2008.
- ¹⁵² MASUZAKI, H.; OGAWA, Y.; SAGAWA, N.; HOSODA, K.; MATSUMOTO, T.; MISE, H.; NISHIMURA, H.; YOSHIMASA, Y.; TANAKA, I.; MORI, T.; NAKAO, K. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. **Nat. Med.** v. 3, p. 1029-1033, 1997.
- ¹⁵³ HOGGARD, N.; HUNTER, L.; DUNCAN, J. S.; WILLIAMS, L. M.; TRAYHURN, P.; MERCER, J. G. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** v. 94, p. 11073-11078, 1997.
- ¹⁵⁴ WANG, J.; LIU, R.; HAWKINS, M.; BARZILAI, N.; ROSSETTI, L. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. **Nature** v. 393, p. 684-688, 1998.
- ¹⁵⁵ MORASH, B.; LI, A.; MURPHY, P. R.; WILKINSON, M.; UR, E. Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. **Endocrinology** v. 140, p. 5995-5998, 1999.
- ¹⁵⁶ SHEKHAWAT, P. S.; GARLAND, J. S.; SHIVPURI, C.; MICK, G. J.; SASIDHARAN, P.; PELZ, C. J.; MCCORMICK, K. L. Neonatal cord blood leptin: It's relationship to birth weight, body mass index, maternal diabetes, and steroids. **Pediatr. Res.** v. 43, p. 338-343, 1998.

-
- ¹⁵⁷ BADO, A.; LEVASSEUR, S.; ATTOUB, S.; KERMORGANT, S.; LAIGNEAU, J. P.; BORTOLUZZI, M. N.; MOIZO, L.; LEHY, T.; GUERRE-MILLO, M.; LE MARCHAND-BRUSTEL, Y.; LEWIN, M. J. M. The stomach is a source of leptin. **Nature** v. 394, p. 790-793, 1998.
- ¹⁵⁸ HOUSEKNECHT, K. L.; MANTZOROS, C. S.; KULIAWAT, R.; HADRO, E.; FLIER, J. S.; KAHN. Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity. **Diabetes** v. 45, p. 1638-1643, 1996.
- ¹⁵⁹ MEYER, C.; ROBSON, D.; RACKOVSKY, N.; NADKARNI, V.; GERICH, J. Role of the kidney in human leptin metabolism. **Am. J. Physiol.** v. 273, p. E903-E907, 1997.
- ¹⁶⁰ LEE, G. H.; PROENCA, R.; MONTEZ, J. M.; CARROLL, K. M.; DARVISHZADEH, J. G.; LEE, J. I.; FRIEDMAN, J. M. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. **Nature** v. 379, p. 632-635, 1996.
- ¹⁶¹ TARTAGLIA, L. A. The leptin receptor. **J. Biol. Chem.** v. 272, p. 6093-6096, 1997.
- ¹⁶² ELMQUIST, J. K.; BJORBAEK, C.; AHIMA, R. S.; FLIER, J. S.; SAPER, C. B.; Distribution of leptin receptor isoforms in the rat brain. **J. Comp. Neurol.** v. 395, p. 535-547, 1998.
- ¹⁶³ JIN, L.; BURGUERA, B. G.; COUCE, M. E.; SCHEITHAUER, B. W.; LAMSON, J.; EBERHARDT, N. L.; KULIG, E.; LLOYD, R. V. Leptin and leptin receptor expression in the normal and neoplastic human pituitary: evidence of a regulatory role of leptin on pituitary cell proliferation. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 84, p. 2903-2911, 1999.
- ¹⁶⁴ NOWAK, K. W.; KACZMAREK, P.; MACKOWIAK, P.; ZIOLKOWSKA, A.; ALBERTIN, G.; GINDA, W. J.; TREJTER, M.; NUSSDORFER, G. G.; MALENDOWICZ, L. K. Rat thyroid gland expresses the long form of leptin receptors, and leptin stimulates the function of the gland in euthyroid non-fasted animals. **Int. J. Mol. Med.** v. 9, p. 31-34, 2002.
- ¹⁶⁵ HOGGARD, N.; MERCER, J. G.; RAYNER, D. V.; MOAR, K.; TRAYHURN, P.; WILLIAMS, L. M. Localization of leptin receptor mRNA splice variants in murine peripheral tissues by RT-PCR and in situ hybridization. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 232, p. 383-7, 1997.
- ¹⁶⁶ WHITE, D. W.; TARTAGLIA, L. A. Evidence for ligand-independent homo-oligomerisation of leptin receptor (Ob-R) isoforms: a proposed mechanism permitting productive long-form

signaling in the presence of excess short-form expression. **J. Cell. Biochem.** v. 73, p. 278–288, 1999.

¹⁶⁷ BATES, S. H.; STEARNS, W. H.; DUNDON, T. A.; SCHUBERT, M.; TSO, A. W.; WANG, Y.; BANKS, A. S.; LAVERY, H. J.; HAQ, A. K.; MARATOS-FLIER, E.; NEEL, B. G.; SCHWARTZ, M. W.; MYERS, M. G. JR. STAT3 signaling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. **Nature** v. 421, p. 856–859, 2003.

¹⁶⁸ BJØRAECK, C.; EL HASCHIMI, K.; FRANTZ, J. D.; FLIER, J. S. The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. **J. Biol. Chem.** v. 274, p. 30059–30065, 1999.

¹⁶⁹ HENRY, B. A.; CLARKE, I. J. Adipose tissue hormones and the regulation of food intake. **J. Neuroendocrinol.** v. 20, n. 6, p. 842–849, 2008.

¹⁷⁰ MARGETIC, S.; GAZZOLA, G.; PEGG, G. G.; HILL, R. A. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. **Int. J. Obes.** v. 26, p. 1–27, 2002.

¹⁷¹ BJORBAEK, C. U. S.; DA SILVA, B.; FLIER, J. S. Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. **J. Biol. Chem.** v. 272, p. 32686–32695, 1997.

¹⁷² KASTIN, A. J.; PAN, W. Dynamic regulation of leptin entry into brain by the blood-brain barrier. **Reg. Pep.** v. 92, p. 37–43, 2000.

¹⁷³ SCARPACE, P. J.; MATHENY, M.; POLLOCK, B. H.; TUMER, N. Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure. **Am. J. Physiol.** v. 273, p. E226–E230, 1997.

¹⁷⁴ YU, W. H.; KIMURA, M.; WALCZEWSKA, A.; KARANTH, S.; MCCANN, S. M. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. **Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.** v. 94, p. 1023–1028, 1997.

¹⁷⁵ SAWCHENKO, P. E. Toward a new neurobiology of energy balance, appetite and obesity: The anatomists weigh in. **J. Comp. Neuro.** v. 402, p. 435–441, 1998.

¹⁷⁶ HAGAN, M. M.; RUSHING, P. A.; SCHWARTZ, M. W.; YAGALOFF, K. A.; BURN, P.; WOODS, S. C.; SEELEY, R. J. Role of the CNS melanocortin system in the response to overfeeding. **J. Neurosci.** v. 19, p. 2362–2367, 1999.

¹⁷⁷ SHALTS, E.; FENG, Y. J.; FERIN, M.; WARLAN, S. L. Alpha-melanocyte-stimulating hormone antagonizes the neuroendocrine effects of corticotropin-releasing factor and interleukin-1 alpha in the primate. **Endocrinology** v. 131, p. 132-138, 1992.

¹⁷⁸ PELLEYMOUNTER, M. A.; CULLEN, M. J.; BAKER, M. B.; HECHT, R.; WINTERS, D.; BOONE, T.; COLLINS, F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. **Science** v. 269, n. 5223, p. 540-543, 1995.

¹⁷⁹ KORBONITS, M. Leptin and the thyroid--a puzzle with missing pieces. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. v. 49, n. 5, p. 569-572, 1998.

¹⁸⁰ CUSIN, I.; ROURU, J.; VISSER, T.; BURGER, A. G.; ROHNER-JEANRENAUD, F. Involvement of thyroid hormones in the effect of intracerebroventricular leptin infusion on uncoupling protein-3 expression in rat muscle. **Diabetes** v. 49, p. 1101-1105, 2000.

¹⁸¹ MUOIO, D. M.; DOHM, G. L. Peripheral metabolic actions of leptin. **Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 16, n. 4, p. 653-666, 2002.

¹⁸² BARASH, I. A.; CHEUNG, C. C.; WEIGLE, D. S.; REN, H.; KABIGTING, E. B.; KUIJPER, J. L.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. **Endocrinology** v. 137, p. 3144-3147, 1996.

¹⁸³ AHIMA, R. S.; DUSHAY, J.; FLIER, S. N.; PRABAKARAN, D.; FLIER, J. S. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. **J. Clin. Invest.** v. 99, p. 391-395, 1997.

¹⁸⁴ ROSSETTI, L.; MASSILLON, D.; BARZILAI, N.; VUGUIN, P.; CHEN, W.; HAWKINS, M.; WU, J.; WANG, J. Short term effects of leptin on hepatic gluconeogenesis and in vivo insulin action. **J. Biol. Chem.** v. 272, p. 27758-27763, 1997.

¹⁸⁵ KAMOHARA, S.; BURCELIN, R.; HALAAS, J. L.; FRIEDMAN, J. M.; CHARRON, M. J. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. **Nature** v. 389, p. 374-377, 1997.

¹⁸⁶ FLIER, J. S. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. **Cell** v. 116, n. 2, p. 337-350, 2004.

¹⁸⁷ STEPPAN, C. M.; SWICK, A. G. A role for leptin in brain development. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 256, p. 600-602, 1999.

¹⁸⁸ SCHERER, P. E.; WILLIAMS, S.; FOGLIANO, M.; BALDINI, G.; LODISH, H. F. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. **J. Biol. Chem.** v. 270, p. 26746-26749, 1995.

¹⁸⁹ MAEDA, K.; OKUBO, K.; SHIMOMURA, I.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; MATSUBARA, K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 221, p. 286-289, 1996.

¹⁹⁰ HU, E.; LIANG, P.; SPIEGELMAN, B. M. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. **J. Biol. Chem.** v. 271, p. 10697-10703, 1996.

¹⁹¹ NAKANO, Y.; TOBE, T.; CHOI-MIURA, N. H.; MAZDA, T.; TOMITA, M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. **J. Biochem.** v. 120, p. 803-812, 1996.

¹⁹² ARITA, Y.; KIHARA, S.; OUCHI, N.; TAKAHASHI, M.; MAEDA, K.; MIYAGAWA, J.; HOTTA, K.; SHIMOMURA, I.; NAKAMURA, T.; MIYAOKA, K.; KURIYAMA, H.; NISHIDA, M.; YAMASHITA, S.; OKUBO, K.; MATSUBARA, K.; MURAGUCHI, M.; OHMOTO, Y.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 257, p. 79-83, 1999.

¹⁹³ FAIN, J. N.; MADAN, A. K.; HILER, M. L.; CHEEMA, P.; BAHOUTH, S. W. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. **Endocrinology** v. 145, p. 2273-2282, 2004.

¹⁹⁴ MOTOSHIMA, H.; WU, X.; SINHA, M. K.; HARDY, V. E.; ROSATO, E. L.; BARBOT, D. J.; ROSATO, F. E.; GOLDSTEIN, B. J. Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 87, n. 12, p. 5662-5667, 2002.

¹⁹⁵ DELPORTE, M. L.; FUNAHASHI, T.; TAKAHASHI, M.; MATSUZAWA, Y.; BRICHARD, S. M. Pre- and post-translational negative effect of beta-adrenoceptor agonists on adiponectin secretion: in vitro and in vivo studies. **Biochem. J.** v. 367, p. 677-685, 2002.

¹⁹⁶ ALTOMONTE, J.; HARBARAN, S.; RICHTER, A.; DONG, H. Fat depot-specific expression of adiponectin is impaired in Zucker fatty rats. **Metabolism** v. 52, n. 8, p. 958-963, 2003.

¹⁹⁷ VIENGCHAREUN, S.; ZENNARO, M. C.; LÊ TALLEC, L. P.; LOMBES, M. Brown adipocytes are novel sites of expression and regulation of adiponectin and resistin. **Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett.** v. 532, n. 3, p. 345-350, 2002.

¹⁹⁸ PIÑEIRO, R.; IGLESIAS, M. J.; GALLEGU, R.; RAGHAY, K.; EIRAS, S.; RUBIO, J.; DIEGUEZ, C.; GUALILLO, O.; GONZALEZ-JUANATEY, J. R.; LAGO, F. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. **Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett.** v. 579, n. 23, p. 5163-5269, 2005.

¹⁹⁹ BERNER, H. S.; LYGSTADAAS, S. P.; SPAHR, A.; MONJO, M.; THOMMESEN, L.; DREVON, C. A.; SYVERSEN, U.; RESELAND, J. E. Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. **Bone** v. 35, n. 4, p. 842-849, 2004.

²⁰⁰ CAMINOS, J. E.; NOGUEIRAS, R.; GALLEGU, R.; BRAVO, S.; TOVAR, S.; GARCIA-CABALLERO, T.; CASANUEVA, F. F.; DIEGUEZ, C. Expression and regulation of adiponectin and receptor in human and rat placenta. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 90, n. 7, p. 4276-4286, 2005.

²⁰¹ YODA-MURAKAMI, M.; TANIGUCHI, M.; TAKAHASHI, K.; KAWAMATA, S.; SAITO, K.; CHOI-MIURA, N. H.; TOMITA, M. Change in expression of GBP28/adiponectin in carbon tetrachloride-administrated mouse liver. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 285, n. 2, p. 372-377, 2001.

²⁰² STAIGER, H.; KAUSCH, C.; GUIRGUIS, A.; WEISSER, M.; MAERKER, E.; STUMVOL, M.; LAMMERS, R.; MACHICAO, F.; HARING, H. U. Induction of adiponectina gene expression in human myotubes by an adiponectina-containing HEK293 cell culture supernatant. **Diabetologia** v. 46, n. 7, p. 956-960, 2003.

²⁰³ DELAIGLE, A. M.; JONAS, J. C.; BAUCHE, I. B.; CORNU, O.; BRICHARD, S. M. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. **Endocrinology** v. 145, n. 12, p. 5589-5597, 2004.

²⁰⁴ TAKAHASHI, M.; ARITA, Y.; YAMAGATA, K.; MATSUKAWA, Y.; OKUTOMI, K.; HORIE, M.; SHIMOMURA, I.; HOTTA, K.; KURIYAMA, H.; KIHARA, S.; NAKAMURA, T.; YAMASHITA, S.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. **Intern. J. Obes. Rel. Metab. Dis.** v. 24, n. 7, p. 861-868, 2000.

-
- ²⁰⁵ DAS, K.; LIN, Y.; WIDEN, E.; ZHANG, Y.; SCHERER, P. E. Chromosomal localization, expression pattern, and promoter analysis of the mouse gene encoding adipocyte-specific secretory protein Acrp30. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 280, p. 1120-1129, 2001.
- ²⁰⁶ REICHENBERGER, E.; BEIER, F.; LUVALLE, P.; OLSEN, B. R.; VON DER MARK, K.; BERTLING, W. M. Genomic organization and full-length cDNA sequence of human collagen X. **FEBS Lett.** v. 311, n. 3, p. 305-310, 1992.
- ²⁰⁷ REID, K. B.; GAGNON, J.; FRAMPTON, J. Completion of the amino acid sequences of the A and B chains of subcomponent C1q of the first component of human complement. **Biochem. J.** v. 203, n. 3, p. 559-569, 1982.
- ²⁰⁸ KONDO, N.; KONDO, J. Identification of novel blood proteins specific for mammalian hibernation. **J. Biol. Chem.** v. 267, n. 1, p. 473-478, 1992.
- ²⁰⁹ WANG, Y.; XU, A.; KNIGHT, C.; XU, L. Y.; COOPER, G. J.; Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. **J. Biol. Chem.** v. 277, p. 19521-19529, 2002.
- ²¹⁰ SHAPIRO, L.; SCHERER, P. E. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. **Curr. Biol.** v. 8, n. 6, p. 335-338, 1998.
- ²¹¹ RADJAINIA, M.; WANG, Y.; MITRA, A. K. Structural polymorphism of oligomeric adiponectin visualized by electron microscopy. **J. Mol. Biol.** v. 381, n. 2, p. 419-430, 2008.
- ²¹² PAJVANI, U. B.; DU, X.; COMBS, T. P.; BERG, A. H.; RAJALA, M. W.; SCHULTHESS, T.; ENGEL, J.; BROWNLEE, M.; SCHERER, P. E. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. **J. Biol. Chem.** v. 278, p. 9073-9085, 2003.
- ²¹³ GARAULET, M.; HERNÁNDEZ-MORANTE, J. J.; DE HEREDIA, F. P.; TÉBAR, F. J. Adiponectin, the controversial hormone. **Public. Health. Nutr.** v. 10, p. 1145-1150, 2007.
- ²¹⁴ HUG, C.; LODISH, H. F. The role of the adipocyte hormone adiponectin in cardiovascular disease. **Curr. Op. Pharmacol.** v. 5, n. 2, p. 129-134, 2005.

-
- ²¹⁵ GAVRILA, A.; PENG, C. K.; CHAN, J. L.; MIETUS, J. E.; GOLDBERGER, A. L.; MANTZOROS, C. S. Diurnal and ultradian dynamics of serum adiponectin in healthy men: comparison with leptin, circulating soluble leptin receptor, and cortisol patterns. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 88, p. 2838-2843, 2003.
- ²¹⁶ HOTTA, K.; FUNAHASHI, T.; ARITA, Y.; TAKAHASHI, M.; MATSUDA, M.; OKAMOTO, Y.; IWAHASHI, H.; KURIYAMA, H.; OUCHI, N.; MAEDA, K.; NISHIDA, M.; KIHARA, S.; SAKAI, N.; NAKAJIMA, T.; HASEGAWA, K.; MURAGUCHI, M.; OHMOTO, Y.; NAKAMURA, T.; YAMASHITA, S.; HANAFUSA, T.; MATSUZAWA, Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** v. 20, n. 6, p. 1595-1599, 2000.
- ²¹⁷ YILDIZ, B. O.; SUCHARD, M. A.; WONG, M. L.; MCCANN, S. M.; LICINIO, J. Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** v. 101, n. 28, p. 10434-10439, 2004.
- ²¹⁸ SHAND, B.; ELDER, P.; SCOTT, R.; FRAMPTON, C.; WILLIS, J. Biovariability of plasma adiponectin. **Clin. Chem. Lab. Med.** v. 44, n. 10, p. 1264-1268, 2006.
- ²¹⁹ CALVANI, M.; SCARFONE, A.; GRANATO, L.; MORA, E. V.; NANNI, G.; CASTAGNETO, M.; GRECO, A. V.; MANCO, M.; MINGRONE, G. Restoration of adiponectin pulsatility in severely obese subjects after weight loss. **Diabetes** v. 53, n. 4, p. 939-947, 2004.
- ²²⁰ OLIVER, P.; RIBOT, J.; RODRIGUEZ, A. M.; SANCHEZ, J.; PICO, C.; PALOU, A. Resistin as a putative modulator of insulin action in the daily feeding/fasting rhythm. **Pflugers Archiv.** v. 452, n. 3, p. 260-267, 2006.
- ²²¹ ANDO, H.; YANAGIHARA, H.; HAYASHI, Y.; OBI, Y.; TSURUOKA, S.; TAKAMURA, T.; KANEKO, S.; FUJIMURA, A. Rhythmic messenger ribonucleic acid expression of clock genes and adipocytokines in mouse visceral adipose tissue. **Endocrinology** v. 146, n. 12, p. 5631-5636, 2005.
- ²²² WEYER, C.; FUNAHASHI, T.; TANAKA, S.; HOTTA, K.; MATSUZAWA, Y.; PRATLEY, R. E.; TATARANNI, P. A. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: Close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 86, p. 1930-1935, 2001.

-
- ²²³ MILAN, G.; GRANZOTTO, M.; SCARDA, A.; CALCAGNO, A.; PAGANO, C.; FEDERSPIL, G.; VETTOR, R. Resistin and adiponectin expression in visceral fat of obese rats: effect of weight loss. **Obes. Res.** v. 10, p. 1095-1199, 2002.
- ²²⁴ MOORE, G. B.; CHAPMAN, H.; HOLDER, J. C.; LISTER, C. A.; PIERCY, V.; SMITH, S. A.; CLAPHAM, J. C. Differential regulation of adipocytokine mRNAs by rosiglitazone in db/db mice. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 286, p. 735-741, 2001.
- ²²⁵ COMUZZIE, A. G.; FUNAHASHI, T.; SONNENBERG, G.; MARTIN, L. J.; JACOB, H. J.; BLACK, A. E. K.; MAAS, D.; TAKAHASHI, M.; KIHARA, S.; TANAKA, S.; MATSUZAWA, Y.; BLANGERO, J.; COHEN, D.; KISSEBAH, A. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 86, p. 4321-4325, 2001.
- ²²⁶ KERN, P. A.; DI GREGORIO, G. B.; LU, T.; RASSOULI, N.; RANGANATHAN, G. Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor-alpha expression. **Diabetes** v. 52, p. 1779-1785, 2003.
- ²²⁷ MAEDA, N.; TAKAHASHI, M.; FUNAHASHI, T.; KIHARA, S.; NISHIZAWA, H.; KISHIDA, K.; NAGARETANI, H.; MATSUDA, M.; KOMURO, R.; OUCHI, N.; KURIYAMA, H.; HOTTA, K.; NAKAMURA, T.; SHIMOMURA, I.; MATSUZAWA, Y. PPAR γ ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. **Diabetes** v. 50, p. 2094-2099, 2001.
- ²²⁸ COMBS, T. P.; WAGNER, J. A.; BERGER, J.; DOEBBER, T.; WANG, W. J.; ZHANG, B. B.; TANEN, M.; BERG, A. H.; O'RAHILLY, S.; SAVAGE, D. B.; CHATTERJEE, K.; WEISS, S.; LARSON, P. J.; GOTTESDIENER, K. M.; GERTZ, B. J.; CHARRON, M. J.; SCHERER, P. E.; MOLLER, D. E. Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPAR γ agonists: a potential mechanism of insulin sensitization. **Endocrinology** v. 143, p. 998-1007, 2002.
- ²²⁹ IWAKI, M.; MATSUDA, M.; MAEDA, N.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; MAKISHIMA, M.; SHIMOMURA, I. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. **Diabetes** v. 52, n. 7, p. 1655-1663, 2003.
- ²³⁰ YU, J. G.; JAVORSCHI, S.; HEVENER, A. L.; KRUSZYNSKA, Y. T.; NORMAN, R. A.; SINHA, M.; OLEFSKY, J. M. The effect of thiazolidinediones on plasma adiponectin levels in normal, obese, and type 2 diabetic subjects. **Diabetes** v. 51, n. 10, p. 2968-2974, 2002.

-
- ²³¹ FASSHAUER, M.; KLEIN, J.; NEUMANN, S.; ESZLINGER, M.; PASCHKE, R. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 290, n. 3, p. 1084–1089, 2002.
- ²³² HALLEUX, C. M.; TAKAHASHI, M.; DELPORTE, M. L.; DETRY, R.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; BRICHARD, S. M. Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 288, p. 1102-1107, 2001.
- ²³³ PARK, S.; OH, S. Y.; LEE, M. Y.; YOON, S.; KIM, K. S.; KIM, J. CCAAT/enhancer binding protein and nuclear factor- γ regulate adiponectin gene expression in adipose tissue. **Diabetes** v. 53, p. 2757-2766, 2004.
- ²³⁴ KAPPES, A.; LÖFFLER, G.; Influences of ionomycin, dibutyl-cycloAMP and tumour necrosis factor- α on intracellular amount and secretion of apM1 in differentiating primary human preadipocytes. **Horm. Metab. Res.** v. 32, n. 11-12, p. 548-554, 2000.
- ²³⁵ FASSHAUER, M.; KLEIN, J.; NEUMANN, S.; ESZLINGER, M.; PASCHKE, R. Adiponectin gene expression is inhibited by beta adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. **FEBS Lett.** v. 507, p. 142-146, 2001.
- ²³⁶ NILSSON, L.; BINART, N.; BOHLOOLY-Y, M.; BRAMNERT, M.; EGECIOGLU, E.; KINDBLUM, J.; KELLY, P. A.; KOPCHICK, J. J.; ORMANDY, C. J.; LING, C.; BILLIG, H. Prolactin and growth hormone regulate adiponectin secretion and receptor expression in adipose tissue. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 331, p. 1120-1126, 2005.
- ²³⁷ COMBS, T. P.; BERG, A. H.; RAJALA, M. W.; KLEBANOV, S.; IYENGAR, P.; JIMENEZ-CHILLARON, J. C.; PATTI, M. E.; KLEIN, S. L.; WEINSTEIN, R. S.; SCHERER, P. E. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. **Diabetes** v. 52, p. 268-276, 2003.
- ²³⁸ NISHIZAWA, H.; SHIMOMURA, I.; KISHIDA, K.; MAEDA, N.; KURIYAMA, H.; NAGARETANI, H.; MATSUDA, M.; KONDO, H.; FURUYAMA, N.; KIHARA, S.; NAKAMURA, T.; TOCHINO, Y.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. **Diabetes** v. 51, p. 2734-2741, 2002.
- ²³⁹ FERNÁNDEZ-REAL, J. M.; LÓPEZ-BERMEJO, A.; CASAMITJANA, R.; RICART, W. Novel interactions of adiponectin with the endocrine system and inflammatory parameters. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 88, n. 6, p. 2714-2718, 2003.

-
- ²⁴⁰ CNOP, M.; HAVEL, P. J.; UTZSCHNEIDER, K. M.; CARR, D. B.; SINHA, M. K.; BOYKO, E. J.; RETZLAFF, B. M.; KNOPP, R. H.; BRUNZELL, J. D.; KAHN, S. E. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. **Diabetologia** v. 46, n. 4, p. 459–469, 2003.
- ²⁴¹ NAGASAKI, T.; INABA, M.; HIURA, Y.; TAHARA, H.; KUMEDA, Y.; SHIRAKAWA, K.; ONODA, K.; ISHIKAWA, T.; ISHIMURA, E.; NISHIZAWA, Y. Plasma levels of adiponectin and soluble thrombomodulin in hypothyroid patients with normal thyroid function following levothyroxine replacement therapy. **Biomed Pharmacotherapy** v. 59, p. 571–577, 2005.
- ²⁴² YODA, M.; NAKANO, Y.; TOBE, T.; SHIODA, S.; CHOI-MIURA, N.H.; TOMITA, M. Characterization of mouse GBP28 and its induction by exposure to cold. **Intern. J. Obes. Rel. Metab. Dis.** v. 25, n. 1, p. 75-83, 2001.
- ²⁴³ YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; ITO, Y.; TSUCHIDA, A.; YOKOMIZO, T.; KITA, S.; SUGIYAMA, T.; MIYAGISHI, M.; HARA, K.; TSUNODA, M.; MURAKAMI, K.; OHTEKI, T.; UCHIDA, S.; TAKEKAWA, S.; WAKI, H.; TSUNO, N. H.; SHIBATA, Y.; TERAUCHI, Y.; FROGUEL, P.; TOBE, K.; KOYASU, S.; TAIRA, K.; KITAMURA, T.; SHIMIZU, T.; NAGAI, R.; KADOWAKI, T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. **Nature** v. 423, p. 762-769, 2003.
- ²⁴⁴ SATOH, H.; NGUYEN, M. T.; TRUJILLO, M.; IMAMURA, T.; USUI, I.; SCHERER, P. E.; OLEFSKY, J. M. Adenovirus-mediated adiponectin expression augments skeletal muscle insulin sensitivity in male Wistar rats. **Diabetes** v. 54, n. 5, p. 1304-1313, 2005.
- ²⁴⁵ KHARROUBI, I.; RASSCHAERT, J.; EIZIRIK, D. L.; CNOP, M. Expression of adiponectin receptors in pancreatic beta cells. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 312, p. 1118-1122, 2003.
- ²⁴⁶ CHINETTI, G.; ZAWADSKI, C.; FRUCHART, J. C.; STAELS, B. Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPARalpha, PPARgamma, and LXR. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** v. 314, p. 51-158, 2004.
- ²⁴⁷ KADOWAKI, T.; YAMAUCHI, T.; KUBOTA, N.; HARA, K.; UEKI, K.; TOBE, K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. **J. Clin. Invest.** v. 116, n. 7, p. 1784-1792, 2006.

- ²⁴⁸ MAO, X.; KIKANI, C. K.; RIOJAS, R. A.; LANGLAIS, P.; WANG, L.; RAMOS, F. J.; FANG, Q.; CHRIST-ROBERTS, C. Y.; HONG, J. Y.; KIM, R. Y.; LIU, F.; DONG, L. Q. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. **Nat. Cell. Biol.** v. 8, n. 5, p.516-523, 2006. Erratum in: *Nat. Cell. Biol.* v. 8 n. 6, p. 642, 2006.
- ²⁴⁹ TSUCHIDA, A.; YAMAUCHI, T.; ITO, Y.; HADA, Y.; MAKI, T.; TAKEKAWA, S.; KAMON, J.; KOBAYASHI, M.; SUZUKI, R.; HARA, K.; KUBOTA, N.; TERAUCHI, Y.; FROGUEL, P.; NAKAE, J.; KASUGA, M.; ACCILI, D.; TOBE, K.; UEKI, K.; NAGAI, R.; KADOWAKI, T. Insulin/Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. **J. Biol. Chem.** v. 279, n. 29, p. 30817-30822, 2004.
- ²⁵⁰ YAMAUCHI, T.; NIO, Y.; MAKI, T.; KOBAYASHI, M.; TAKAZAWA, T.; IWABU, M.; OKADA-IWABU, M.; KAWAMOTO, S.; KUBOTA, N.; KUBOTA, T.; ITO, Y.; KAMON, J.; TSUCHIDA, A.; KUMAGAI, K.; KOZONO, H.; HADA, Y.; OGATA, H.; TOKUYAMA, K.; TSUNODA, M.; IDE, T.; MURAKAMI, K.; AWAZAWA, M.; TAKAMOTO, I.; FROGUEL, P.; HARA, K.; TOBE, K.; NAGAI, R.; UEKI, K.; KADOWAKI, T. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. **Nat. Med.** v. 13, p. 332-339, 2007.
- ²⁵¹ CEDDIA, R. B.; SOMWAR, R.; MAIDA, A.; FANG, X.; BIKOPOULOS, G.; SWEENEY, G. Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. **Diabetologia** v. 48, p. 132-139, 2005.
- ²⁵² COMBS, T. P.; BERG, A. H.; OBICI, S.; SCHERER, P. E.; ROSSETTI, L. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. **J. Clin. Invest.** v. 198, p. 1875-1881, 2001.
- ²⁵³ SPRANGER, J.; VERMA, S.; GÖHRING, I.; BOBBERT, T.; SEIFERT, J.; SINDLER, A. L.; PFEIFFER, A.; HILEMAN, S. M.; TSCHÖP, M.; BANKS, W. A. Adiponectin does not cross the blood-brain barrier but modifies cytokine expression of brain endothelial cells. **Diabetes** v. 55, p. 141-147, 2006.
- ²⁵⁴ KUBOTA, N.; TERAUCHI, Y.; YAMAUCHI, T.; KUBOTA, T.; MOROI, M.; MATSUI, J.; ETO, K.; YAMASHITA, T.; KAMON, J.; SATOH, H.; YANO, W.; FROGUEL, P.; NAGAI, R.; KIMURA, S.; KADOWAKI, T.; NODA, T. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. **J. Biol. Chem.** v. 277, p. 25863-25866, 2002.
- ²⁵⁵ KUBOTA, N.; TERAUCHI, Y.; KUBOTA, T.; KUMAGAI, H.; ITOH, S.; SATOH, H.; YANO, W.; OGATA, H.; TOKUYAMA, K.; TAKAMOTO, I.; MINEYAMA, T.; ISHIKAWA, M.; MOROI, M.; SUGI, K.; YAMAUCHI, T.; UEKI, K.; TOBE, K.; NODA, T.; NAGAI, R.; KADOWAKI, T. Pioglitazone ameliorates insulin resistance and diabetes by both adiponectin-dependent and -independent pathways. **J. Biol. Chem.** v. 281, n. 13, p. 8748-8755, 2006.

-
- ²⁵⁶ KUBOTA, N.; YANO, W.; KUBOTA, T.; YAMAUCHI, T.; ITOH, S.; KUMAGAI, H.; KOZONO, H.; TAKAMOTO, I.; OKAMOTO, S.; SHIUCHI, T.; SUZUKI, R.; SATOH, H.; TSUCHIDA, A.; MOROI, M.; SUGI, K.; NODA, T.; EBINUMA, H.; UETA, Y.; KONDO, T.; ARAKI, E.; EZAKI, O.; NAGAI, R.; TOBE, K.; TERAUCHI, Y.; UEKI, K.; MINOKOSHI, Y.; KADOWAKI, T. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. **Cell Metab.** v. 6, p. 55-68, 2007.
- ²⁵⁷ FRY, M.; SMITH, P. M.; HOYDA, T. D.; DUNCAN, M.; AHIMA, R. S.; SHARKEY, K. A.; FERGUSON, A. V. Area postrema neurons are modulated by the adipocyte hormone adiponectin. **J. Neurosci.** v. 26, p. 9695-9702, 2006.
- ²⁵⁸ BERG, A. H.; COMBS, T. P.; DU, X.; BROWNLEE, M.; SCHERER, P. E. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. **Nat. Med.** v. 7, p. 947-953, 2001.
- ²⁵⁹ RUAN, H.; LODISH, H. F. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor. **Cytokine Growth Factor Rev.** v. 14, p. 447-455, 2003.
- ²⁶⁰ SPRANGER, J.; KROKE, A.; MOHLIG, M.; BERGMANN, M. M.; RISTOW, M.; BOEING, H.; PFEIFFER, A. F. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. **Lancet** v. 361, p. 226-228, 2003.
- ²⁶¹ INOUE, M.; YANO, M.; YAMAKADO, M.; MAEHATA, E.; SUZUKI, S. Relationship between the adiponectin-leptin ratio and parameters of insulin resistance in subjects without hyperglycemia. **Metab. Clin. Exp.** v. 55, p. 1248-1254, 2006.
- ²⁶² KISSEBAH, A. H.; SONNENBERG, G. E.; MYKLEBUST, J.; GOLDSTEIN, M.; BROMAN, K.; JAMES, R. G.; MARKS, J. A.; KRAKOWER, G. R.; JACOB, H. J.; WEBER, J.; MARTIN, L.; BLANGERO, J.; COMUZZIE, A. G. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** v. 97, n. 26, p. 14478-14483, 2000.
- ²⁶³ VIONNET, N.; HANI, E. H.; DUPONT, S.; GALLINA, S.; FRANCKE, S.; DOTTE, S.; DE MATOS, F.; DURAND, E.; LEPRETRE, F.; LECOEUR, C.; GALLINA, P.; ZEKIRI, L.; DINA, C.; FROGUEL, P. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. **Am. J. Hum. Gen.** v. 67, n. 6, p. 1470-1480, 2000.

-
- ²⁶⁴ KONDO, H.; SHIMOMURA, I.; MATSUKAWA, Y.; KUMADA, M.; TAKAHASHI, M.; MATSUDA, M.; OUCHI, N.; KIHARA, S.; KAWAMOTO, T.; SUMITSUJI, S.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a candidate gene for the insulin resistance syndrome. **Diabetes** v. 51, n. 7, p. 2325-2328, 2002.
- ²⁶⁵ HARA, K.; BOUTIN, P.; MORI, Y.; TOBE, K.; DINA, C.; YASUDA, K.; YAMAUCHI, T.; OTABE, S.; OKADA, T.; ETO, K.; KADOWAKI, H.; HAGURA, R.; AKANUMA, Y.; YAZAKI, Y.; NAGAI, R.; TANIYAMA, M.; MATSUBARA, K.; YODA, M.; NAKANO, Y.; TOMITA, M.; KIMURA, S.; ITO, C.; FROGUEL, P.; KADOWAKI, T. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. **Diabetes** v. 51, n. 2, p. 536-540, 2002.
- ²⁶⁶ WAKI, H.; YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; ITO, Y.; UCHIDA, S.; KITA, S.; HARA, K.; HADA, Y.; VASSEUR, F.; FROGUEL, P.; KIMURA, S.; NAGAI, R.; KADOWAKI, T. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J. Biol. Chem.* v. 278, n. 41, p. 40352-40363, 2003.
- ²⁶⁷ NAGASAWA, A.; FUKUI, K.; FUNAHASHI, T.; MAEDA, N.; SHIMOMURA, I.; KIHARA, S.; WAKI, M.; TAKAMATSU, K.; MATSUZAWA, Y. Effects of soy protein diet on the expression of adipose genes and plasma adiponectin. **Horm. Metab. Res.** v. 34, p. 635-639, 2002.
- ²⁶⁸ NAGAO, K.; INOUE, N.; WANG, Y. M.; YANAGITA, T. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 310, p. 562-566, 2003.
- ²⁶⁹ FLACHS, P.; MOHAMED-ALI, V.; HORAKOVA, O.; ROSSMEISL, M.; HOSSEINZADEH-ATTAR, M. J.; HENSLER, M.; RUZICKOVA, J.; KOPECKY, J. Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed a high-fat diet. **Diabetologia** v. 49, p. 394-397, 2006.
- ²⁷⁰ MA, K.; CABRERO, A.; SAHA, P. K.; KOJIMA, H.; LI, L.; CHANG, B. H.; PAUL, A.; CHAN, L. Increased beta -oxidation but no insulin resistance or glucose intolerance in mice lacking adiponectin. **J. Biol. Chem.** v. 277, p. 34658-34661, 2002.
- ²⁷¹ YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; WAKI, H.; IMAI, Y.; SHIMOZAWA, N.; HIOKI, K.; UCHIDA, S.; ITO, Y.; TAKAKUWA, K.; MATSUI, J.; TAKATA, M.; ETO, K.; TERAUCHI, Y.; KOMEDA, K.; TSUNODA, M.; MURAKAMI, K.; OHNISHI, Y.; NAITOH, T.; YAMAMURA, K.; UEYAMA, Y.; FROGUEL, P.; KIMURA, S.; NAGAI, R.; KADOWAKI, T. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. **J. Biol. Chem.** v. 278, n. 4, p. 2461-2468, 2003.

²⁷² OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y.; MAEDA, K.; KURIYAMA, H.; OKAMOTO, Y.; HOTTA, K.; NISHIDA, M.; TAKAHASHI, M.; NAKAMURA, T.; YAMASHITA, S.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. **Circulation** v. 100, p. 2473-2476, 1999.

²⁷³ OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y.; NISHIDA, M.; MATSUYAMA, A.; OKAMOTO, Y.; ISHIGAMI, M.; KURIYAMA, H.; KISHIDA, K.; NISHIZAWA, H.; HOTTA, K.; MURAGUCHI, M.; OHMOTO, Y.; YAMASHITA, S.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. **Circulation** v. 103, p. 1057-1063, 2001.

²⁷⁴ ARITA, Y.; KIHARA, S.; OUCHI, N.; MAEDA, K.; KURIYAMA, H.; OKAMOTO, Y.; KUMADA, M.; HOTTA, K.; NISHIDA, M.; TAKAHASHI, M.; NAKAMURA, T.; SHIMOMURA, I.; MURAGUCHI, M.; OHMOTO, Y.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. **Circulation** v. 105, p. 2893-2898, 2002.

²⁷⁵ ZOCCALI, C.; MALLAMACI, F.; TRIPEPI, G.; BENEDETTO, F. A.; CUTRUPI, S.; PARLONCO, S.; MALATINO, L. S.; BONANNO, G.; SEMINARA, G.; RAPISARDA, F.; FATUZZO, P.; BUEMI, M.; NICOCIA, G.; TANAKA, S.; OUCHI, N.; KIHARA, S.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. **J. Am. Soc. Nephrol.** v. 13, n. 1, p. 134-141, 2002.

²⁷⁶ PISCHON, T.; GIRMAN, C. J.; HOTAMISLIGIL, G. S.; RIFAI, N.; HU, F. B.; RIMM, E. B. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. **J. Am. Med. Assoc.** v. 291, p. 1730-1737, 2004.

²⁷⁷ HALUZÍK, M.; PARÍZKOVÁ, J.; HALUZÍK, M. M. Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. **Physiol. Res.** v. 53, n. 2, p. 123-129, 2004.

²⁷⁸ HAVEL, P.J. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. **Diabetes** v. 53, Suppl 1, S143-151, 2004.

²⁷⁹ IACOBELLIS, G.; RIBAUDO, M. C.; ZAPPATERRENO, A.; IANNUCCI, C. V.; LEONETTI, F. Relationship of thyroid function with body mass index, leptin, insulin sensitivity and adiponectin in euthyroid obese women. **Clin. Endocrinol.** (Oxf) v. 62, n. 4, p. 487-491, 2005.

-
- ²⁸⁰ DE PERGOLA, G.; CIAMPOLILLO, A.; PAOLOTTI, S.; TREROTOLI, P.; GIORGINO, R.; Free triiodothyronine and thyroid stimulating hormone are directly associated with waist circumference, independently of insulin resistance, metabolic parameters and blood pressure in overweight and obese women. **Clin. Endocrinol.** (Oxf) v. 67, p. 265-269, 2007.
- ²⁸¹ TUCA, A.; GIRALT, M.; VILLARROYA, F.; VINAS, O.; MAMPEL, T.; IGLESIAS, R. Ontogeny of thyroid hormone receptors and c-erbA expression during brown adipose tissue development: evidence of fetal acquisition of the mature thyroid status. **Endocrinology** v. 132, n. 5, p. 1913-1920, 1993.
- ²⁸² ENDO, T.; OHTA, K.; HARAGUCHI, K.; ONAYA, T. Cloning and functional expression of a thyrotropin receptor cDNA from rat fat cells. **J. Biol. Chem.** v. 270, n. 18, p. 10833-10837, 1995.
- ²⁸³ REYNE, Y.; NOUGUES, J.; CAMBON, B.; VIGUERIE-BASCANDS, N.; CASTEILLA, L. Expression of c-erbA alpha, c-erbA beta and Rev-erbA alpha mRNA during the conversion of brown adipose tissue into white adipose tissue. **Mol. Cell. Endocrinol.** v. 116, n. 1, p. 59-65, 1996.
- ²⁸⁴ SAITO, T.; KAWANO, T.; SAITO, T.; IKOMA, A.; NAMAI, K.; TAMEMOTO, H.; KAWAKAMI, M.; ISHIKAWA, S. Elevation of serum adiponectin levels in Basedow disease. **Metab. Clin. Experiment.** v. 54, p. 1461-1466, 2005.
- ²⁸⁵ VIGUERIE, N.; MILLET, L.; AVIZOU, S.; VIDAL, H.; LARROUY, D.; LANGIN, D. Regulation of human adipocyte gene expression by thyroid hormone. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 87, n. 2, p. 630-634, 2002.
- ²⁸⁶ LÉGRÁNDI, 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** v. 138, p. 2569-2576, 1997.
- ²⁸⁷ NILLNI, E. A.; ASLET, C.; HARRIS, M.; HOLLENBERG, A.; BJORBAK, C.; FLIER, J. S. Leptin regulates prothyrotropin-releasing hormone biosynthesis. Evidence for direct and indirect pathways. **J. Biol. Chem.** v. 275, p. 36124-36133, 2000.
- ²⁸⁸ SEOANE, L. M.; CARRO, E.; TOVAR, S.; CASANUEVA, F. F.; DIEGUEZ, C. Regulation of in vivo TSH secretion by leptin. **Reg. Pep.** v. 92, p. 25-29, 2000.

-
- ²⁸⁹ HARRIS, M.; ASCHKENASI, C.; ELIAS, C. F.; CHANDRANKUNNEL, A.; NILLNI, E. A.; BJORBAEK, C.; ELMQUIST, J. K.; FLIER, J. S.; HOLLENBERG, A. N. Transcriptional regulation of the thyrotropin-releasing hormone gene by leptin and melanocortin signaling. **J. Clin. Invest.** v. 107, p. 111-120, 2001.
- ²⁹⁰ ORTIGA-CARVALHO, T. M.; OLIVEIRA, K. J.; SOARES, B. A.; PAZOS-MOURA, C. C. The role of leptin in the regulation of TSH secretion in the fed state: in vivo and in vitro studies. **J. Endocrinol.** v. 174, p. 121-125, 2002.
- ²⁹¹ COSTA DA VEIGA, M. A. L.; OLIVEIRA, K. J.; CURTY, F. H.; PAZOS-MOURA, C. C. Thyroid hormones modulate the endocrine and autocrine/paracrine actions of leptin on thyrotropin secretion. **J. Endocrinol.** v. 183, p. 243-247, 2004.
- ²⁹² JIN, L.; ZHANG, S.; BURGUERA, B. G.; COUCE, M. E.; OSAMURA, R. Y.; KULIG, E.; LLOYD, R. V. leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells. **Endocrinology** v. 141, p. 333-339, 2000.
- ²⁹³ ISOZAKI, O.; TSUSHIMA, T.; NOZOE, Y.; MIYAKAWA, M.; TAKANO, K. Leptin regulation of the thyroids: negative regulation on thyroid hormone levels in euthyroid subjects and inhibitory effects on iodine uptake and Na⁺/I⁻ symporter mRNA expression in rat FRTL-5 cells. **Endocr. J.** v. 51, p. 415-423, 2004.
- ²⁹⁴ WANG, Q.; BING, C.; AL-BARAZANJI, K.; MOSSAKOWASKA, D. E.; WANG, X. M.; MCBAY, D. L.; NEVILLE, W. A.; TADDAYON, M.; PICKAVANCE, L.; DRYDEN, S.; THOMAS, M. E.; MCHALE, M. T.; GLOYER, I. S.; WILSON, S.; BUCKINGHAM, R.; ARCH, J. R.; TRAYHURN, P.; WILLIAMS, G. Interactions between leptin and hypothalamic neuropeptide Y neurons in the control of food intake and energy homeostasis in the rat. **Diabetes** v. 46, n. 3, p. 335-341, 1997.
- ²⁹⁵ LÉGRÁDI, G.; LECHAN, R. M. The arcuate nucleus is the major source for neuropeptide Y-innervation of thyrotropin-releasing hormone neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. **Endocrinology** v. 139, n. 7, p. 3262-3270, 1998.
- ²⁹⁶ FEKETE, C.; KELLY, J.; MIHÁLY, E.; SARKAR, S.; RAND, W. M.; LÉGRÁDI, G.; EMERSON, C. H.; LECHAN, R. M. Neuropeptide Y has a central inhibitory action on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. **Endocrinology** v. 142, n. 6, p. 2606-2613, 2001.
- ²⁹⁷ KIM, M. S.; SMALL, C. J.; STANLEY, S. A.; MORGAN, D. G.; SEAL, L. J.; KONG, W. M.; EDWARDS, C. M.; ABUSNANA, S.; SUNTER, D.; GHATEI, M. A.; BLOOM, S. R. The central melanocortin system affects the hypothalamo-pituitary thyroid axis and may mediate the effect of leptin. **J. Clin. Invest.** v. 105, n. 7, p. 1005-1111, 2000.

-
- ²⁹⁸ MANTZOROS, C. S.; OZATA, M.; NEGRÃO, A. B.; SUCHARD, M. A.; ZIOTOPOULOU, M.; CAGLAYAN, S.; ELASHOFF, R. M.; COGSWELL, R. J.; NEGRO, P.; LIBERTY, V.; WONG, M. L.; VELDHUIS, J.; OZDEMIR, I. C.; GOLD, P. W.; FLIER, J. S.; LICINIO, J. Synchronicity of frequently sampled thyrotropin (TSH) and leptin concentrations in healthy adults and leptin-deficient subjects: evidence for possible partial TSH regulation by leptin in humans. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 86, n. 7, p. 3284-3291, 2001.
- ²⁹⁹ LISBOA, P. C.; OLIVEIRA, K. J.; CABANELAS, A.; ORTIGA-CARVALHO, T. M.; PAZOS-MOURA, C. C. Acute cold exposure, leptin, and somatostatin analog (octreotide) modulate thyroid 5'-deiodinase activity. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** v. 284, p. E1172-E1176, 2003.
- ³⁰⁰ CABANELAS, A.; LISBOA, P. C.; MOURA, E. G.; PAZOS-MOURA, C. C. Leptin acute modulation of the 5'-deiodinase activities in hypothalamus, pituitary and brown adipose tissue of fed rats. **Horm. Metab. Res.** v. 38, n. 8, p. 481-485, 2006.
- ³⁰¹ CETTOUR-ROSE, P.; BURGER, A. G.; MEIER, C. A.; VISSER, T. J.; ROHNER-JEANRENAUD, F. Central stimulatory effect of leptin on T3 production is mediated by brown adipose tissue type 2 deiodinase. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** v. 283, p. E980-987, 2002.
- ³⁰² CORBETTA, S.; ENGLARO, P.; GIAMBONA, S.; PERSANI, L.; BLUM, W. F.; BECK-PECCOZ, P. Lack of effects of circulating thyroid hormone levels on serum leptin concentrations. **Eur. J. Endocrinol.** v. 37, n. 6, p. 659-63, 1997.
- ³⁰³ SREENAN, S.; CARO, J. F.; REFETOFF, S. Thyroid dysfunction is not associated with alterations in serum leptin levels. **Thyroid** v. 7, n. 3, p. 407-409, 1997.
- ³⁰⁴ VALCAVI, R.; ZINI, M.; PEINO, R.; CASANUEVA, F. F.; DIEGUEZ, C. Influence of thyroid status on serum immunoreactive leptin levels. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 82, n. 5, p. 1632-1634, 1997.
- ³⁰⁵ LEONHARDT, U.; RITZEL, U.; SCHAFFER, G.; BECKER, W.; RAMADORI, G. Serum leptin levels in hypo- and hyperthyroidism. **J. Endocrinol.** v. 157, n. 1, p. 75-79, 1998.
- ³⁰⁶ WAHRENBERG, H.; WENNLUND, A.; HOFFSTEDT, J. Increased adipose tissue secretion of interleukin-6, but not of leptin, plasminogen activator inhibitor-1 or tumour necrosis factor alpha, in Graves' hyperthyroidism. **Eur. J. Endocrinol.** v. 146, n. 5, p. 607-611, 2002.

-
- ³⁰⁷ PINKNEY, J. H.; GOODRICK, S. J.; KATZ, J.; JOHNSON, A. B.; LIGHTMAN, S. L.; COPPACK, S. W.; MOHAMED-ALI, V. Leptin and the pituitary-thyroid axis: a comparative study in lean, obese, hypothyroid and hyperthyroid subjects. **Clin. Endocrinol.** (Oxf) v. 49, n. 5, p. 583-588, 1998.
- ³⁰⁸ MATSUBARA, M.; YOSHIZAWA, T.; MORIOKA, T.; KATAYOSE, S. Serum leptin and lipids in patients with thyroid dysfunction. **J. Atheroscler. Thromb.** v.7, n. 1, p. 50-54, 2000.
- ³⁰⁹ IGLESIAS, P.; FIDALGO, P. A.; CODOCEO, R.; DÍEZ, J. J.; Serum concentrations of adipocytokines in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism before and after control of thyroid function. **Clin. Endocrinol.** v. 59, p. 621-629, 2003.
- ³¹⁰ NAKAMURA, T.; NAGASAKA, S.; ISHIKAWA, S.; HAYASHI, H.; SAITO, T.; KUSAKA, I.; HIGASHIYAMA, M.; SAITO, T. Association of hyperthyroidism with serum leptin levels. **Metabolism** v. 49, n. 10, p. 1285-1288, 2000.
- ³¹¹ YOSHIDA, T.; MOMOTANI, N.; HAYASHI, M.; MONKAWA, T.; ITO, K.; SARUTA, T. Serum leptin concentrations in patients with thyroid disorders. **Clin. Endocrinol.** (Oxf) v. 48, n. 3, p. 299-302, 1998.
- ³¹² HSIEH, C. J.; WANG, P. W.; WANG, S. T.; LIU, R. T.; TUNG, S. C.; CHIEN, W. Y.; LU, Y. C.; CHEN, J. F.; CHEN, C. H.; KUO, M. C. Serum leptin concentrations of patients with sequential thyroid function changes. **Clin. Endocrinol.** (Oxf) v. 57, n. 1, p. 29-34, 2002.
- ³¹³ ZIMMERMANN-BELSING, T.; BRABANT, G.; HOLST, J. J.; FELDT-RASMUSSEN, U. Circulating leptin and thyroid dysfunction. **Eur. J. Endocrinol.** v. 149, p. 257-271, 2003.
- ³¹⁴ KOKKINOS, A.; MOUROUZIS, I.; KYRIAKI, D.; PANTOS, C.; KATSILAMBROS, N.; COKKINOS, D. V. Possible implications of leptin, adiponectin and ghrelin in the regulation of energy homeostasis by thyroid hormone. **Endocr.** v. 32, p. 30-32, 2007.
- ³¹⁵ MEDINA-GOMES, G.; CALVO, R. M.; OBREGÓN, M. J. T3 and Triac inhibit leptin secretion and expression in brown and white rat adipocytes. **Biochim. Biophys. Acta.** v. 1682, p. 38-47, 2004.
- ³¹⁶ FAIN, J. N.; BAHOUTH, S. W. Effect of tri-iodothyronine on leptin release and leptin mRNA accumulation in rat adipose tissue. **Biochem. J.** v. 332, p. 361-366, 1998.

-
- ³¹⁷ MENENDEZ, C.; BALDELLI, R.; CAMINA, J. P.; ESCUDERO, PEINO, R.; DIEGUEZ, C.; CASANUEVA, F. F. TSH stimulates leptin secretion by a direct effect on adipocytes. **J. Endocrinol.** v. 176, p. 7-12, 2003.
- ³¹⁸ YATURU, S.; PRADO, S.; GRIMES, S. R. Changes in adipocyte hormones leptin, resistin, and adiponectin in thyroid dysfunction. **J. Cell. Biochem.** v. 93, p. 491-496, 2004.
- ³¹⁹ MALYSZKO, J.; MALYSZKO, J.; WOLCZYNSKI, S.; MYSLIWIEC, M. Adiponectin, leptin and thyroid hormones in patients with chronic renal failure and on renal replacement therapy: are they related? **Nephrol. Dial. Transplant.** v. 21, n. 1, p. 145-152, 2006.
- ³²⁰ ARAGÃO, C. N.; SOUZA, L.L.; CABANELAS, A.; OLIVEIRA, K. J.; PAZOS-MOURA, C.C.; Adiponectin serum concentration is increased in experimental hyperthyroidism. **Metabolism** v. 56, p. 6-11, 2007.
- ³²¹ FUJIMOTO, N.; MATSUO, N.; SUMIYOSHI, H.; YAMAGUCHI, K.; SAIKAWA, T.; YOSHIMATSU, H.; YOSHIOKA, H. Adiponectin is expressed in the brown adipose tissue and surrounding immature tissues in mouse embryos. **Biochim. Biophys. Acta.** v. 1731, p. 1-12, 2005.
- ³²² SAMUELS, H. H.; STANLEY, F.; CASANOVA, J. Depletion of L-3,5,3-triiodothyronine and L-thyroxine in euthyroid calf serum for use in cell culture studies of action of thyroid hormone. **Endocrinology** v. 105, p. 80-85, 1979.
- ³²³ DELPORTE, M. L.; MKADEM, S. A.; QUISQUATER, M.; BRICHARD, S. M. Leptin treatment markedly increased plasma adiponectin but barely decreased plasma resistin of ob/ob mice. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** v. 287, p. E446–E453, 2004.
- ³²⁴ FESTUCCIA, W. T.; LAPLANTE, M.; BERTHIAUME, M.; GÉLINAS, Y.; DESHAIES, Y. PPARgamma agonism increases rat adipose tissue lipolysis, expression of glyceride lipases, and the response of lipolysis to hormonal control. **Diabetologia.** v. 49, n. 10, p. 2427-2436, 2006.
- ³²⁵ MINEO, H. A.; ODA, C.; CHIJI, H.; KAWADA, T.; SHIMIZU, K.; TAIRA, T. Thiazolidinediones exhibit different effects on preadipocytes isolated from rat mesenteric fat tissue and cell line 3T3-L1 cells derived from mice. **Cell Biol. Int.** v. 31, p. 703-710, 2007.

³²⁶ SYED, M. A.; THOMPSON, M. P.; PACHUCKI, J.; BURMEISTER, L. A. The effect of thyroid hormone on size of fat depots accounts for most of the changes in leptin mRNA and serum levels in the rat. **Thyroid** v. 9, n. 5, p. 503-512, 1999.

³²⁷ WANG, J. L.; CHINOOKOSWONG, N.; YIN, S.; SHI, Z. Q. Calorigenic actions of leptin are additive to, but not dependent on, those of thyroid hormones. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* v. 279, n. 6, p. E1278-1285, 2000.

³²⁸ SOUKUP, T.; ZACHAROVÁ, G.; SMERDU, V.; JIRMANOVÁ, I. Body, heart, thyroid gland and skeletal muscle weight changes in rats with altered thyroid status. *Physiol. Res.* v. 50, n. 6, p. 619-626, 2001.

³²⁹ LEWIS, B. M.; HAYES, T. M. Adipose tissue cellularity: effect on insulin and thyroxine. **Horm. Metab. Res.** v. 10, n. 5, p. 386-389, 1978.

³³⁰ MUNIESA, A.; LLOBERA, M.; HERRERA, E. Adipose tissue cellularity in hypo- and hyperthyroid rats. **Horm. Res.** v. 11, n. 5, p. 254-261, 1979

³³¹ YOON, D.; LEE, S. H.; PARK, H. S.; LEE, J. H.; PARK, J. S.; CHO, K. H.; KIM, S. M. Hypoadiponectinemia and insulin resistance are associated with nonalcoholic fatty liver disease. **J. Korean Med. Sci.** v. 3, p. 421-426, 2005.

³³² ADDY, C. L.; GAVRILA, A.; TSIODRAS, S.; BRODOVICZ, K.; KARCHMER, A. W.; MANTZOROS, C. S. Hypoadiponectinemia is associated with insulin resistance, hypertriglyceridemia, and fat redistribution in human immunodeficiency virus-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** v. 88, n. 2, p. 627-636, 2003.

³³³ LEE, S.; BACHA, F.; GUNGOR, N.; ARSLANIAN, S. A. Racial differences in adiponectin in youth: relationship to visceral fat and insulin sensitivity. **Diabetes Care** v. 29, n. 1, p. 51-56, 2006.

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](#)