

Dissertação – Artigo de Revisão Bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina | 2009/2010

**A FUNÇÃO ENDÓCRINO-METABÓLICA DO TECIDO ADIPOSEO
CASTANHO E A SUA APLICABILIDADE NA PREVENÇÃO
E TRATAMENTO DA OBESIDADE**

João Pedro Lopes Teixeira

Orientador

Dr. Jorge Manuel Dores

Porto, Junho 2010

Dissertação – Artigo de Revisão Bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina | 2009/2010

**A FUNÇÃO ENDÓCRINO-METABÓLICA DO TECIDO
ADIPOSO CASTANHO E A SUA APLICABILIDADE NA
PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA OBESIDADE**

João Pedro Lopes Teixeira

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Universidade do Porto
Endereço: Urbanização do Paraíso, bloco 6 3ºEsq.
5100-191 Lamego
jpedrote@gmail.com

Orientador

Dr. Jorge Manuel Dores

Assistente Graduado da disciplina de Endocrinologia do ICBAS-UP

Lista de abreviaturas

AGs	Ácidos gordos
BMPs	<i>Bone morphogenetic proteins</i>
FDG	[¹⁸ F]-2-fluoro-D-2-desoxi-D-glicose
FDG-PET/TC	Tomografia de emissão de positrões com [¹⁸ F]-2-fluoro-D-2-desoxi-D-glicose combinada com tomografia computadorizada
FGFs	Factores de crescimento dos fibroblastos (<i>fibroblast growth factors</i>)
FoxC2	<i>Forkhead box C2</i>
FXR-α	<i>Farnesoid X receptor α</i>
GLP-1	<i>Glucagon-like peptideo 1</i>
IGF-1	Factor de crescimento insulina <i>like</i>
IMC	Índice de massa corporal
LHS	Lipase hormono-sensível
NE	Norepinefrina
OMS	Organização Mundial de Saúde
PET	Tomografia de emissão de positrões (<i>Positron Emission Tomography</i>)
PGC1α	PPAR γ co-ativador 1 α
PKA	Proteína cinase A
PPARα	Receptor α Activado pelos Proliferadores Peroxissomais (peroxisome proliferator-activated receptor- α)
PPARγ	Receptor γ Activado pelos Proliferadores Peroxissomais (peroxisome proliferator-activated receptor- γ)
PRDM16	<i>PRD1-BF-1-RIZ homologous domain-containing protein-16</i>
TAB	Tecido adiposo branco
TAC	Tecido adiposo castanho
TC	Tomografia computadorizada
TG	Triglicerídeos
TGR5	Receptor acoplado à proteína G - 5
TZDs	Tiazolidinedionas
UCP-1	Proteína de desacoplamento 1 ou termogenina (<i>uncoupling protein-1</i>)
USA-fat	Áreas adiposas de captação de FDG a nível supraclavicular (<i>uptake localizing to the supraclavicular area</i>)
VEGF	Factor de crescimento endotelial vascular (<i>vascular endothelial growth factor</i>)

Resumo

A escalada assustadora da epidemia da obesidade espelha a ineficácia das estratégias preventivas e terapêuticas actualmente existentes, transformando a descoberta de novas perspectivas num dos grandes desafios do presente século.

Na génese desta epidemia estão certamente englobadas várias alterações sócio-comportamentais que contribuíram para a modificação dos padrões alimentares e aumento do sedentarismo. No entanto, a nível celular estas alterações representam um simples desequilíbrio da balança energética com consequente armazenamento excessivo de energia.

Desde cedo o tecido adiposo castanho (TAC), pela sua capacidade ímpar de aumentar o gasto energético à custa da termogénese, foi encarado como potencial alvo na regulação do balanço energético corporal. As primeiras tentativas de utilização deste tecido no homem adulto esbarraram sempre no princípio científico que a assumia a completa involução deste tecido após a infância.

Recentes estudos recorrendo à tomografia de emissão de positrões (PET) permitiram perceber que o TAC está presente e é funcional no homem adulto, derrubando definitivamente o dogma que o considerava vestigial. Estas novas evidências associadas aos recentes avanços no estudo da adipogénese permitiram relançar esta corrente científica.

Assim, a recente turbulência em torno do TAC permitiu reavivar a estratégias de estimulação deste tecido e formular uma nova abordagem no tratamento contra a obesidade que prevê a activação do programa específico de diferenciação dos adipócitos castanhos.

Apesar de estar ainda numa fase embrionária de investigação, a perspectiva de utilização do TAC no combate à crescente epidemia da obesidade é uma estratégia racional e por isso deve continuar a merecer atenção por parte da comunidade científica.

Palavras chave

Obesidade; tratamento; tecido adiposo castanho; adipogénese; origem; diferenciação; transdiferenciação; PRDM16; BMP7; agonistas β_3 .

Índice

1. Introdução	1
2. Tecido adiposo e conceito de órgão adiposo	4
3. Tecido adiposo castanho (TAC)	6
3.1 Origem	6
3.2 Controlo transcripcional do desenvolvimento e diferenciação.....	9
3.3 Função endócrino-metabólica.....	14
3.3.1 Termogénese associada ao TAC.....	14
3.3.2 Papel secretor do TAC.....	17
3.4 Presença de TAC funcional no homem adulto	20
4. Perspectiva terapêutica	25
4.1 TAC como arma anti-obesidade	25
4.2 Estratégias que permitem estimular o TAC existente.....	28
4.2.1 Agonistas β_3	29
4.2.3 Efederina.....	31
4.2.4 Ácidos biliares	31
4.3 Estratégias de activação do programa de diferenciação do TAC	33
5. Conclusão.....	36
6. Bibliografia	38
7. Agradecimentos.....	43

1. Introdução

A incidência e prevalência da obesidade está a aumentar tanto nos países em desenvolvimento como nos países desenvolvidos, com taxas de prevalência entre 10 e 35% nos adultos europeus e norte-americanos (Organização Mundial de Saúde, 2000). Este aumento da prevalência e incidência representa um dos grandes problemas do século XXI, uma vez que a obesidade além de ser, por si só, considerada uma doença está associada a um aumento do risco de doença cardiovascular, diabetes tipo 2, doença de Alzheimer, artrite e alguns tipos de cancro (Haslam *et al*, 2005; Gesta *et al*, 2007).

Em 2000, a Organização Mundial de Saúde (OMS) elaborou um plano de controlo para a epidemia da obesidade que assentava no pressuposto de que este é um problema passível de ser prevenido com base na promoção de estilos de vida menos sedentários e adopção de dietas equilibradas. Para por em prática esta estratégia foram definidos quatro planos de acção: prevenção do aumento de peso, promoção da manutenção de peso, gestão das co-morbididades da obesidade e promoção da perda de peso.

Tendo em conta que as estratégias preventivas estão comprovadamente associadas a melhores resultados a longo prazo, a prevenção do aumento do peso foi adoptada pela OMS como alvo prioritário. Assim, foram definidos três níveis de actuação: prevenção global dirigida a todos os indivíduos da comunidade, prevenção selectiva dirigida às populações de risco e prevenção direccionada aos indivíduos que já apresentam excesso de peso. Apesar destas estratégias se basearem na promoção de uma dieta saudável, no aumento da actividade física, ou ambas, elas não podem ser encaradas exclusivamente como da responsabilidade individual. Para serem efectivas, devem ser multisectoriais e envolver a participação activa dos governos/autarquias, indústria e comércio alimentar, *media* e por fim do próprio consumidor (OMS, 2000). Esta ideia de responsabilidade partilhada transmitida pelo plano da OMS é importante, no entanto, permite perceber que a execução prática destas medidas é bastante difícil porque implica alterações em vários sectores da economia.

De facto, apesar do extensivo plano anti-obesidade introduzido pela OMS em 2000, e da crescente consciencialização do peso social, económico e de saúde pública que a obesidade representa, esta epidemia não mostra sinais de abrandamento (Hill *et al*, 2003; Haslam *et al*, 2005). Em 2005, a própria OMS constatou que cerca de 24% da população mundial adulta apresentava excesso de peso e que cerca de 400 milhões eram obesos, estimando que estes valores aumentariam consideravelmente até 2015 atingindo os 700 milhões de obesos (OMS, 2005).

Este cenário realça a necessidade de reestruturação das estratégias actuais e a procura de novas abordagens que ajudem no combate à obesidade. Embora muito já tenha sido feito, é evidente que o nosso melhor é ainda insuficiente, pelo que é necessário procurar novos caminhos para tentar controlar esta ameaça de saúde global.

A obesidade resulta de interacções complexas entre o património genético individual e o meio envolvente, sendo todas elas fortemente influenciadas pelos padrões sociais e culturais. Por trás desta visão complexa podemos ver a obesidade como simples resultado de um balanço positivo entre a energia obtida e a energia dispendida. Neste contexto, o desenvolvimento da obesidade dependerá do balanço entre o tecido adiposo branco (TAB), primeiro local de armazenamento de energia, e o tecido adiposo castanho (TAC), especializado em gastar energia (Gesta *et al*, 2007).

De facto, o tecido adiposo castanho, através de uma proteína única (UCP1 - proteína de desacoplamento 1), é capaz de desacoplar o transporte de prótons a nível mitocondrial impedindo a formação de ATP. Assim, a energia obtida através do movimento de prótons em vez de ser utilizada para formar ATP é libertada sob a forma de calor, condicionando ineficiência metabólica (Canon e Nedergaard, 2004).

Embora a função primária da termogénese seja a regulação da temperatura corporal (Cannon e Nedergaard, 2004), vários estudos farmacológicos e de manipulação genética mostraram que o aumento do TAC ou da expressão da UCP-1 é capaz de prevenir a obesidade em ratos sobrealimentados (Ghorbani e Himms-Hagen, 1997; Xue *et al*, 2007). Este

processo, denominado por termogénese induzida pela alimentação, é útil para evitar o armazenamento excessivo de energia (Cannon e Nedergaard, 2004).

Além disso, à semelhança do tecido adiposo branco, cujo papel no metabolismo endócrino é sobejamente conhecido, também o tecido adiposo castanho parece ter influência na regulação da sensibilidade à insulina. (Yang *et al*, 2003).

Desta forma, este tecido passou a ser visto como uma possível arma anti-obesidade, no entanto, o facto de ser unanimemente considerado vestigial no homem adulto limitou bastante o avanço científico nesta área (Cannon e Nedergaard, 2004).

Estudos recentes baseados em imagens obtidas por tomografia de emissão de positrões com [^{18}F]-2-fluoro-D-2-desoxi-D-glucose (FDG-PET) combinada com tomografia computadorizada (TC) e confirmação posterior através de biopsia, demonstraram que o TAC está presente no homem adulto, essencialmente após exposição ao frio (Nedergaard *et al*, 2007; Cypess *et al*, 2009; Lichtenbelt *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009). Estas evidências vieram relançar a perspectiva de utilização dos adipócitos castanhos para aumentar os gastos energéticos, prevenindo desta forma o aumento de peso e a obesidade.

Assim, neste artigo de revisão pretendo analisar os estudos publicados acerca deste tema, procurando evidências de estratégias viáveis que, recorrendo às propriedades do tecido adiposo castanho, sejam capazes de actuar na prevenção e tratamento da obesidade.

2. Tecido adiposo e conceito de órgão adiposo

À semelhança dos restantes mamíferos, o homem apresenta duas variedades diferentes de tecido adiposo: tecido adiposo branco (TAB) e tecido adiposo castanho (TAC), que se distinguem a nível morfológico, molecular e funcional (tabela I) (Cinti, 2006).

Cinti (2005) introduziu uma nova perspectiva ao considerar que todos os depósitos adiposos teriam adipócitos brancos e castanhos definindo desta forma o conceito dinâmico de órgão adiposo. Assim, considerou que este órgão adiposo representa o conjunto dos vários depósitos contendo os dois tipos de adipócitos, cuja proporção varia de acordo com a localização, idade, género, condições ambientais e estado nutricional (Cinti, 2006). Deste modo, o TAB e o TAC representam os tecidos onde predominam os adipócitos brancos e castanhos, respectivamente (Cinti, 2005).

Esta visão foi corroborada por vários estudos que demonstraram a presença de adipócitos castanhos em depósitos de TAB essencialmente após estimulação pelo frio ou pela alimentação (Cannon e Nedergaard, 2004). Estudos recentes, com base em biópsias guiadas por FDG-PET/TC, mostraram também a presença de uma mistura de adipócitos brancos e castanhos nas áreas cervical e supraclavicular, tidas como importantes depósitos de TAC no homem adulto (Lichtenbelt *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009; Virtanen *et al*, 2009).

Evidências recentes alteraram a visão clássica da origem do tecido adiposo e sugeriram a existência de duas grandes populações de adipócitos castanhos (ver secção seguinte) (Xue *et al*, 2007; Enerbäck, 2009; Seal *et al*, 2009). Assim, foi proposto que os adipócitos castanhos presentes desde a infância apresentam uma linhagem celular e um comportamento fenotípico diferente dos adipócitos recrutados após estimulação adrenérgica (Xue *et al*, 2007; Enerbäck, 2009; Seal *et al*, 2009).

	TAB		TAC		
Papel endócrino/metabólico	1) Importante armazenamento energético (triglicerídeos) - Lipólise/lipogénese 2) Actividade secretória elevada - leptina - adiponectina, - várias citocinas, - angiotensinogénio, - inibidor do activador do plasminogénio (PAI)		1) Participação na regulação da temperatura corporal através da termogénese <i>nonshivering</i> 2) Baixa capacidade de armazenamento de gordura 3) Alguma actividade secretória (consultar secção 3.3.2 deste trabalho)		
Estrutura macroscópica					
Principais depósitos adiposos ^{1,2}	Visceral	Subcutânea	Ratos	RN	Adulto
	Omental Retroperitoneal	Abdominal Glútea Mamária	IE	IE	Supraclavicular Cervical Para-vertebral
Variação intersexual ^{1,2}	Homem	Mulher	Homem		Mulher
	Predomínio visceral intra-abdominal	Predomínio Subcutâneo: Mama Anca	Apresentam distribuição idêntica, no entanto, a quantidade de TAC é maior no sexo feminino		
Organização tecidual	Pequenos lóbulos		Organização lobular com estrutura idêntica a uma glândula		
Vascularização	Alguma vascularização		Vascularização complexa com inúmeros capilares sanguíneos e fluxo sanguíneo intenso		
Inervação	SN simpático (maioritariamente) SN parassimpático		SN simpático (quase exclusivo)		
Estrutura microscópica					
Forma	Varia de poliédrica a esférica		Essencialmente poligonal		
Tamanho	Muito variável (25-200µm)		15-60 µm		
Vesículas lipídicas	Unilocular (ocupa 90% do volume da célula)		Multilocular com pequenas vesículas lipídicas		
Mitocôndria	Poucas, pequenas e alongadas		Abundantes, grandes e redondas		
Celularidade	Alta		Baixa		
Características moleculares					
Principais marcadores ^{1,2,3}	Leptina RIP140 MPF-1 HoxA4 e HoxC8		UCP-1 Cidea Deiodinase tipo 2 HoxA1 e Hox C4	Elov13 PRDM16 Citocromo c PPARα PGC1α	

Tabela I - Resumo das diferenças major entre tecido adiposo branco (TAB) e tecido adiposo castanho (TAC). Recém-nascido (RN); Interescapular (IE); Sistema nervoso (SN)

1- Gesta et al, 2007; 2 - Cypess et al, 2009; 3 - Seal et al, 2009.

Tabela adaptada do artigo: Frühbeck et al, 2009a.

3. Tecido adiposo castanho (TAC)

3.1 Origem

A origem e o processo de diferenciação das *stem cells* em adipócitos castanhos representam um dos assuntos mais debatidos pela comunidade científica. Durante a última década surgiram vários estudos que contrariam a definição clássica que assume uma origem comum para os adipócitos brancos e castanhos (Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2008; Park *et al*, 2008; Enerbäck, 2009).

É unanimemente aceite que, à semelhança dos miócitos e condrócitos, os adipócitos têm origem na mesoderme. Os adipócitos castanhos aparecem mais cedo que os brancos durante o período de desenvolvimento fetal (Gesta *et al*, 2007). A sua proporção em relação ao peso corporal é máxima à nascença, quando a termogénese é essencial para a manutenção da temperatura corporal (Frühbeck *et al*, 2009a). À medida que os anos passam esta proporção vai diminuindo, o que pode ser explicado pelo facto de o homem adulto apresentar uma razão superfície/volume mais baixa que o recém-nascido. Desta forma, a dispersão térmica é menor, pelo que necessita de menos produção de calor para manter a temperatura corporal (Cinti, 2006; Seale *et al*, 2009).

A investigação dos progenitores dos adipócitos tem-se revelado bastante complexa, uma vez que, os pré-adipócitos são morfologicamente indistinguíveis de qualquer outra célula do tipo fibroblasto *like* (Gesta *et al*, 2007). Além disso, o único marcador aceite para os pré-adipócitos é o factor pré-adipócitos 1 (Pref-1). Este, está presente em grandes quantidades tanto nos pré-adipócitos castanhos como nos brancos, diminuindo quando estes atingem o final da diferenciação (Gesta *et al*, 2007). No entanto, o Pref-1 não é específico do tecido adiposo estando também presente na placenta, hipófise, cortex adrenal, fígado fetal e nas células das ilhotas pancreáticas (Gesta *et al*, 2007).

Até há pouco tempo, embora não se conhecesse o exacto número de estadios intermédios, era consensual que os dois tipos de tecido adiposo tinham um percusor comum (pré-adipócito) (Gesta *et al*, 2007).

Em 2008, a equipa de Seale conduziu uma experiência em que utilizou um marcador genético para perceber qual o destino das células que expressavam o factor miogénico Myf5, tido como gene exclusivo da linhagem miogénica (Seal *et al*, 2008). Surpreendentemente, este marcador apareceu não só nos miócitos, mas também nos adipócitos castanhos. Estes dados permitiram inferir sobre a possível origem comum destes dois tecidos, contrariando assim o conceito prévio que defendia a existência de um precursor comum para o tecido adiposo (Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2008). Esta conclusão foi fortalecida, uma vez que foi possível perceber que o factor regulador de transcrição PRDM16 é capaz de controlar, de forma bidireccional, a diferenciação de miócitos e adipócitos, isto é, a ausência de PRDM16 nos precursores de TAC promove a miogénese enquanto a sua expressão ectópica nos mioblastos estimula a adipogénese (Seal *et al*, 2008).

Outros estudos tinham já encontrado indícios que sugeriam proximidade entre estes dois tipos de células. Atit *et al* (2006) já tinham proposto uma linhagem celular comum, com base na existência de uma população de células En1⁺ (engrailing-1) capazes de se diferenciar em miócitos e adipócitos castanhos. No entanto, estas evidências eram pouco conclusivas porque as células que expressam o En1 aparecem muito cedo no desenvolvimento fetal do rato, pelo que estão presentes em diversas linhagens celulares (Seal *et al*, 2008). Um outro estudo da equipa de Timmons *et al* (2007), demonstrou que os precursores dos adipócitos castanhos apresentam vários genes característicos dos miócitos.

Apesar destes dados sugerirem a existência de um precursor Myf5⁺ comum para os adipócitos castanhos e miócitos, não é possível excluir a hipótese destas células serem provenientes de diferentes linhagens Myf5⁺ (Seal *et al*, 2008; Enerbäck, 2009). A identificação de adipócitos castanhos no músculo esquelético fornece também uma pista para a possível origem comum destes dois tecidos, no entanto, não foram ainda feitos estudos para verificar se esta população de células é positiva para o factor Myf5 (Langin, 2010).

O estudo da equipa de Seal permitiu ainda verificar outro facto interessante: os adipócitos castanhos estimulados pelos agonistas- β_3 e pela exposição ao frio não expressam o factor Myf5 (Seal *et al*, 2008).

Assim, ponderou-se a existência de dois tipos de adipócitos castanhos distintos na sua origem (figura 1) (Xue *et al*, 2007; Enerbäck, 2009; Seal *et al*, 2009). Os adipócitos castanhos, encontrados nos depósitos de TAB após estimulação adrenérgica, são Myf5⁻, portanto derivam de uma linhagem celular que nunca expressou este marcador. Em contraste, os adipócitos castanhos presentes nos depósitos característicos de TAC derivam de linhagens celulares Myf5⁺ (Enerbäck, 2009). Assim, pode-se considerar que os adipócitos *gordura castanha like* presentes nos depósitos de TAB, apresentam maior plasticidade fenotípica, o que lhes permite adaptarem-se às alterações do meio. Ao contrário, os adipócitos castanhos presentes nos depósitos característicos de TAC desde a infância, representam uma população celular mais estável e portanto com menor plasticidade fenotípica (Seal *et al*, 2009).

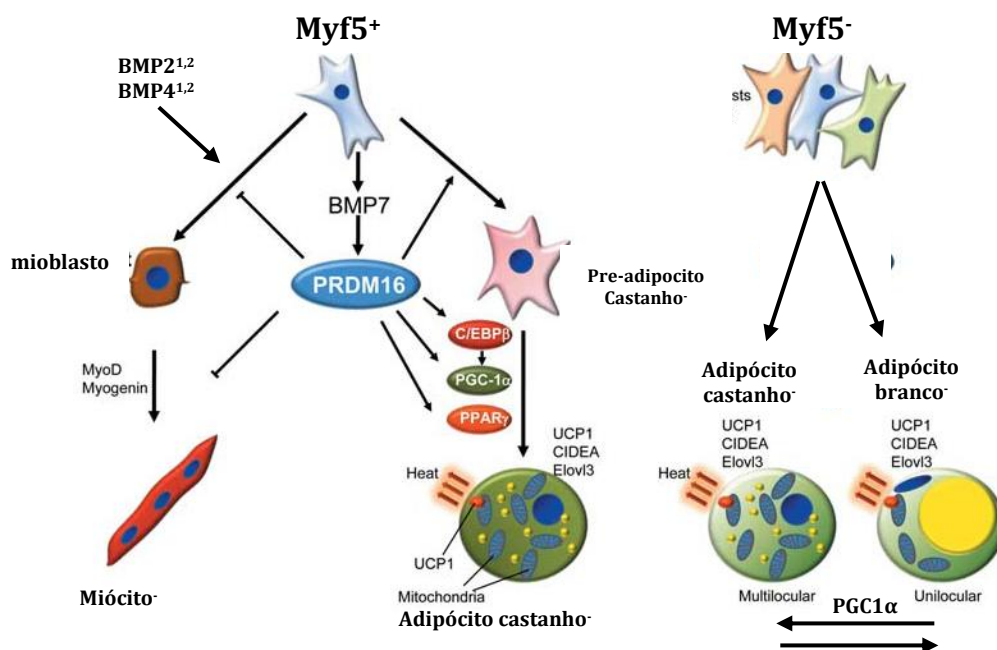


Figura 1 - Origem e diferenciação do TAC - imagem adaptado do artigo: Christian e Parker 2009

1 – Langin 2010; 2 – Frühbeck *et al*, 2009a e 2009b

Mantém-se, no entanto, a dúvida quanto ao tipo de célula que origina os adipócitos castanhos Myf5⁻, sendo possível que estas tenham origem nos pré-adipócitos brancos ou sejam formadas por transdiferenciação dos adipócitos brancos maduros (Cinti, 2006; Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2009; Barbatelli *et*

al, 2010; Langin, 2010). Em alternativa, estas células podem ainda derivar de *stem cells* primitivas, ou já parcialmente acometidas com o tecido adiposo castanho (Cinti, 2006; Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2009; Langin, 2010).

Alguns estudos sugeriram que os adipócitos brancos derivam de células *pericito like*, uma sub-população de células associadas aos capilares sanguíneos presentes no tecido adiposo (Gesta *et al*, 2007; Enerbäck, 2009). Assim, segundo a perspectiva de origem comum, alguns autores consideram que os adipócitos castanhos Myf5⁺ derivam também destas células *pericito like* (Enerbäck, 2009).

Evidências recentes consideraram a transdiferenciação como o principal processo de formação dos adipócitos *gordura castanha like* (Myf5⁺) no seio dos depósitos de TAB (Barbatelli *et al*, 2010; Langin, 2010). Esta perspectiva foi apoiada pela identificação de adipócitos com morfologia intermédia entre brancos e castanhos, e pelo facto de não se verificar um aumento dos precursores brancos durante a estimulação adrenérgica (Langin, 2010). Novos dados permitiram ainda perceber que o aumento da expressão de PGC-1 α (ver secção 3.2) nos depósitos subcutâneos de TAB permite aumentar a expressão da UCP1 e vários outros marcadores de TAC, sugerindo que esta molécula está intimamente associada ao processo de transdiferenciação (figura 1) (Langin, 2010).

3.2 Controlo transcripcional do desenvolvimento e diferenciação

Nos últimos anos têm surgido vários estudos, *in vivo* e em culturas celulares, sobre as vias moleculares que controlam o processo de diferenciação dos adipócitos (Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2009).

O **PPAR γ** (Receptor γ Activado pelos Proliferadores Peroxissomais), membro da superfamília dos receptores hormonais nucleares, e vários membros da família dos factores de transcrição **C/EBP (α , β e δ)** são vistos como elementos cruciais no processo de diferenciação dos adipócitos brancos e castanhos (Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2008, 2009).

O PPAR γ tem um papel central na adipogénese tendo sido demonstrado que ele é necessário e suficiente para que o processo de diferenciação ocorra (Gesta *et al*, 2007). Além disso, o PPAR γ parece ser necessário para a manutenção do estado de diferenciação terminal dos adipócitos, uma vez que sua ausência induz desdiferenciação, com perda da acumulação lipídica e diminuição da expressão de marcadores característicos destas células (Gesta *et al*, 2007). Apesar de ser importante no processo de diferenciação dos dois tipos de adipócitos, uma mutação específica do PPAR γ , P465L, implica um défice no desenvolvimento do TAC mas não no TAB (Seal *et al*, 2009).

Três membros da família C/EBP (α , β e δ) são importantes na activação e manutenção de vários genes indutores da adipogénese, incluindo o PPAR γ . O C/EBP α é necessário para a diferenciação dos adipócitos brancos e desempenha um papel importante na regulação da sensibilidade à insulina no adipócito adulto (Gesta *et al*, 2007; Park, *et al* 2008; Seal *et al*, 2009).

A expressão forçada de C/EBP β nos adipócitos brancos maduros promove a expressão de vários genes característicos do TAC, no entanto, este factor está presente nos estádios iniciais de diferenciação dos dois tipos de adipócitos (Seal *et al*, 2009).

Apesar do PPAR γ e dos C/EBP's (α , β e δ) orquestrarem a cascata transcripcional que mantém estável o estado de diferenciação dos adipócitos, estas moléculas não controlam a sua diferenciação selectiva em brancos e castanhos (Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2009).

Estudos recentes encontraram várias moléculas que regulam a diferenciação dos adipócitos castanhos. Os factores mais estudados são o FoxC2 (*Forkhead box C2*), o PGC-1 α (PPAR γ coactivator-1 α) e o PRDM16 (*PRD1-BF-1-RIZ homologous domain-containing protein-16*), (Seal *et al*, 2009).

O FoxC2 é um factor de transcrição capaz de promover o desenvolvimento dos adipócitos castanhos sensibilizando-os para a estimulação β -adrenérgica através da via do cAMP-PKA (Seal *et al*, 2009). A expressão transgénica deste factor induz um fenótipo *brown fat-like* nas células de TAB,

com aumento da expressão de genes termogénicos (ex: gene da UCP1) e mitocondriais. Os ratos com FoxC2 transgénicos são magros, sensíveis à insulina e resistentes à obesidade induzida por dieta hipercalórica (Seal *et al*, 2009).

Apesar de intimamente relacionado com a promoção da diferenciação de TAC, o FoxC2, pelo menos a nível do mRNA, está presente em iguais quantidades nos dois tipos de adipócitos. Além disso, falta ainda perceber se este factor é necessário para que o processo de diferenciação ocorra (Seal *et al*, 2009).

Outro importante regulador do processo de diferenciação do TAC é o **PGC-1 α (PPAR γ coactivator-1 α)**, tido como essencial para a biogénese mitocondrial e estimulação do metabolismo oxidativo em vários tipos celulares, através da co-activação de inúmeros factores de transcrição (Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2009). À semelhança do FoxC2, a expressão ectópica de PGC-1 α em adipócitos brancos, induz a expressão de vários genes mitocondriais, incluindo o gene da UCP1 (Seal *et al*, 2009).

Diversas moléculas mostraram-se capazes de influenciar a diferenciação e função dos adipócitos castanhos, ao estimularem ou inibirem a expressão do PGC-1 α (tabela II) (Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2009).

A ablação genética do PGC-1 α resulta na incapacidade de termogénese adaptativa ao frio, por ausência de resposta à estimulação adrenérgica via cAMP. No entanto, muitos genes do TAC, não dependentes da estimulação adrenérgica, e o próprio processo de diferenciação mantêm-se inalterados apesar da ausência do PGC-1 α . Este facto sugere que, apesar do PGC-1 α ser um factor crucial na regulação da termogénese, não se apresenta como determinante essencial na identidade do TAC (Seal *et al*, 2009).

Molécula	Mecanismo de acção	Acção do PGC-1 α	Acção final sobre o TAC
RIP140 (Receptor nuclear co-repressor 140)	Ligação ao PGC-1 α antagoniza a sua capacidade de transcrição	ê	Ê
SRC-1 (<i>steroid receptor coactivator</i>)	Reforça a capacidade transcripcional do PGC-1 α	é	É
SRC-2 (<i>steroid receptor coactivator</i>)	Inibe a interacção entre PGC-1 α e PPAR γ	ê	Ê
SRC-3 (<i>steroid receptor coactivator</i>)	Inibe o PGC-1 α ao induzir a sua acetilação através da GCN5 (acetiltransferase <i>major</i> do PGC-1 α)	ê	Ê
pRb (proteína do retinoblastoma)	Ligação ao PGC-1 α suprime a sua capacidade de transcrição	ê	Ê
p107 (membro das proteínas do retinoblastoma)	Regulação positiva da pRb	ê	Ê
Wnt10b (proteína sinalizadora <i>wingless</i>)	Inibe a expressão de PGC-1 α	ê	Ê

Tabela II - Moléculas capazes de influenciar a acção do PGC-1 α e consequente acção na expressão e função do TAC – conteúdo da tabela retirado do artigo: Seal *et al*, 2009

O **PRDM16**, já abordado na secção anterior, é um dos reguladores mais importantes no processo de diferenciação dos adipócitos castanhos. A expressão ectópica de PRDM16 nas células mesenquimais, incluindo as precursoras de adipócitos brancos, induz um completo programa de diferenciação em adipócitos castanhos incluindo a activação de genes termogénicos (UCP-1, PGC-1 α e Deiodinase tipo 2), genes mitocondriais e outros genes específicos do TAC (*cidea* e *elovl3*) (Seal *et al*, 2008, 2009). Além disso, a expressão transgénica de PRDM16 no tecido adiposo induz a formação de *clusters* de adipócitos castanhos nos depósitos característicos de TAB. Estas células quando estimuladas pelo sistema β_3 -adrenérgico apresentam uma capacidade de termogénese *nonshivering* idêntica aos restantes adipócitos castanhos (Seal *et al*, 2009).

A sua acção dependente da interacção directa com o PPAR α e γ , e com os PGC-1 α e β , ao contrário dos indícios anteriores que apontavam para uma regulação mediada por ligação ao DNA (Seal *et al*, 2008, 2009). Os estudos da equipa de Seal, mostraram que a relação com o PPAR γ é imprescindível para o controlo sobre a diferenciação dos adipócitos castanhos, uma vez que este factor é fulcral na adipogénese. A capacidade de induzir a diferenciação de adipócitos castanhos através de percursores de adipócitos brancos é mediada pelos factores PGC-1 α e PGC-1 β (Seal *et al*, 2008, 2009). Apesar de se conhecer a relação com todos estes factores, o mecanismo exacto que permite ao PRDM16 controlar a adipogénese ainda não é conhecido (Seal *et al*, 2009).

O PRDM16, além de estimular a expressão de genes característicos do TAC, está associado à supressão de vários marcadores selectivos dos adipócitos brancos (resistina e angiotensinogénio) e dos miócitos (myoD, miogenina e miosina de cadeias pesadas). A supressão dos genes da linhagem branca é mediada pelos co-supressores CtBP1 e 2 (Seal *et al*, 2009).

É importante salientar que a presença de PRDM16 é obrigatória para a manutenção da identidade e função do TAC, uma vez que a depleção deste factor induz a perda de quase todas as características específicas dos adipócitos castanhos (Seal *et al*, 2009).

Além dos factores já descritos, tidos actualmente como os mais importantes na adipogénese do TAC, vários outros factores de crescimento e vias de sinalização foram implicadas neste processo.

As ***bone morphogenetic proteins (BMPs)*** emergiram como potentes reguladores da adipogénese branca e castanha. As BMP-2 e 4 mostraram capacidade para induzir a diferenciação dos adipócitos brancos, enquanto a BMP-7 se mostrou eficaz na promoção da diferenciação de adipócitos castanhos (Tseng, *et al* 2008; Seal *et al*, 2009).

A activação da via das proteínas sinalizadoras **Wnt (wingless)** foi também implicada na adipogénese, uma vez que a activação desta via leva à inibição da diferenciação dos adipócitos brancos e castanhos através do bloqueio do PPAR γ e do C/EBP- α (Gesta *et al*, 2007; Seal *et al*, 2009).

Alguns **factores de crescimento dos fibroblastos (FGFs)** foram também considerados no complexo processo de diferenciação dos adipócitos. O FGF16 mostrou ser capaz de estimular a proliferação dos precursores do TAC, enquanto a expressão transgénica do FGF19 nos miócitos, induz aumento do TAC e consequente aumento dos gastos energéticos (Seal *et al*, 2009).

3.3 Função endócrino-metabólica

3.3.1 Termogénese associada ao TAC

O TAC é especializado em termogénese adaptativa que engloba duas grandes vertentes fisiológicas. A primeira e mais óbvia está relacionada com a **termogénese termoreguladora (ou termogénese induzida pelo frio)**, isto é, a capacidade de regular a temperatura corporal através da libertação de calor. A segunda, denominada por **termogénese metabólico-reguladora ou termogénese induzida pela alimentação**, permite a metabolização do excesso de energia, funcionando como um mecanismo de protecção contra a acumulação descontrolada de reservas energéticas (Cannon e Nedergaard, 2004). Esta segunda vertente da termogénese no TAC gera ainda alguma controvérsia na comunidade científica devido à existência de estudos controversos sobre o tema, existindo autores que consideram esta função meramente acessória e pouco importante (Kozak, 2010).

O processo de termogénese está intimamente relacionado com o TAC devido à sua capacidade para gerar calor a partir da oxidação lipídica não acoplada à produção de ATP (figura 2). A capacidade de desacoplamento é mediada por uma proteína da membrana interna mitocondrial, denominada por **proteína de desacoplamento (UCP-1 - uncoupling protein-1) ou termogenina** (Cannon e Nedergaard, 2004).

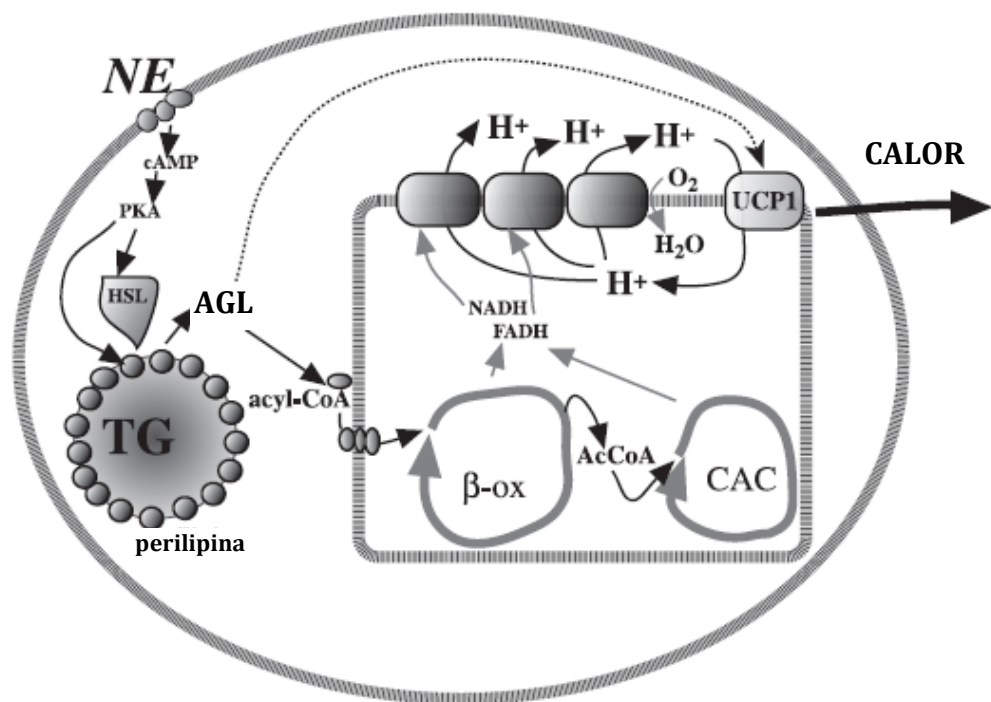


Figura 2 – Processo de termogênese no adipócito castanho. Acetil-CoA (AcCoA); Ácidos gordos livres (AGL); β-oxidação (β-ox); Ciclo do ácido cítrico (CAC); Lipase hormono-sensível (HSL); Norepinefrina (NE);

Imagem adaptada do artigo Cannon e Nedergaard, 2004

Este processo é controlado a nível do sistema nervoso central sendo dependente da coordenação de vários estímulos aferentes e eferentes. A informação da temperatura corporal, das reservas energéticas e do estado nutricional é processada no núcleo ventromedial do hipotálamo. Quando existe necessidade de aumentar o metabolismo energético (na sequência de ingestão calórica) ou aumentar a produção de calor (como resposta ao frio) é transmitido um sinal aos adipócitos castanhos, através do sistema nervoso simpático. Este processo é mediado pela libertação de **norepinefrina (NE)** a partir das terminações nervosas simpáticas permitindo a estimulação dos **receptores β₃-adrenérgicos**. Estes receptores, normalmente acoplados à proteínas G, activam a cascata de sinalização do cAMP e da proteína cinase A (PKA), estimulando a lipólise (Cannon e Nedergaard, 2004).

A LHS é a enzima responsável pela dissociação dos triglicerídeos (TG) em ácidos gordos (AGs) e glicerol, contudo, só se torna activa depois de fosforilada pela PKA. A perilipina está ligada aos TGs e impede a acção da

LHS, no entanto, fica inactiva quando fosforilada. Desta forma, a acção da PKA combina a activação da LHS com a inibição da actividade da perilipina permitindo a estimulação do processo de lipólise (Cannon e Nedergaard, 2004).

O processo de lipólise é essencial, uma vez que permite a libertação de AGs, tidos como o principal substrato metabólico do TAC. Além disso, estes AGs desempenham um importante papel na activação da **UCP-1**, essencial para o processo de termogénese (Cannon e Nedergaard, 2004). Embora parte dos AGs formados a partir da lípolise seja libertado para a circulação, é universalmente aceite que a grande maioria é utilizada como substrato primário da termogénese (Cannon e Nedergaard, 2004).

Os AGs são maioritariamente metabolizados a nível mitocondrial, sendo a sua entrada neste organelo regulada pela activação da acil-CoA e sistema da carnitina (Nelson e Cox, 2000). Após entrar na mitocôndria é iniciado o processo de β -oxidação coordenado com a activação do ciclo do ácido cítrico através da acetil-CoA. Este processo de oxidação ocorre essencialmente devido à redução do NAD^+ ou FAD em NADH e FADH_2 , respectivamente. Como as concentrações destas moléculas são muito baixas é necessário que elas sejam rapidamente regeneradas para evitar a interrupção do processo de oxidação (Nelson e Cox, 2000).

Desta forma, a cadeia respiratória é formada por uma série de oxirredutases organizadas em complexos proteicos na membrana interna da mitocôndria, que possibilitam a regeneração do NAD^+ e do FAD através da redução do O_2 a H_2O . Estes complexos são formados por uma série de subunidades proteicas que além de catalizarem as reacções de oxidação/redução permitem o transporte de protões através da membrana mitocondrial (Nelson e Cox, 2000).

Nos tecidos desprovidos de UCP-1, este bombeamento de protões é feito contra o gradiente químico e eléctrico promovendo a formação de um gradiente electroquímico através da membrana interna da mitocôndria. Assim, os protões vão ter tendência para se movimentarem a favor deste gradiente electroquímico criado. Proteídos específicos da membrana interna vão acoplar este movimento

de protões a vários processos reactivos, sendo a formação de ATP o mais importante (Nelson e Cox, 2000).

No TAC a presença da proteína de desacoplamento (UCP-1 - *uncoupling protein-1*) ou termogenina, permite a passagem dos protões a favor do gradiente electroquímico mas sem os acoplar ao processo de fosforilação do ATP. Assim, a energia do movimento dos protões é libertada sob a forma de calor em vez de ser utilizada para a fosforilação de ATP (Nelson e Cox, 2000; Cannon e Nedergaard, 2004).

Este movimento de protões vai levar à diminuição do gradiente electroquímico permitindo que a movimentação no sentido contrário seja mais fácil, aumentando desta forma a velocidade de oxidação de nutrientes e consumo de O₂ (Nelson e Cox, 2000).

3.3.2 Papel secretor do TAC

Embora o tecido adiposo seja reconhecido como um importante órgão endócrino, o papel exacto do TAC neste campo é ainda pouco conhecido. Ainda assim é possível distinguir várias substâncias libertadas por este tecido e agrupá-las de acordo com o local de actuação. As substâncias com acção autócrina e parácrina estão resumidas na tabela III, enquanto a função endócrina é discutida em separado na subsecção 3.3.2.1..

Autócrino	
Proteínas membranares (colagénio tipo IV, laminina e fibronectina)	Marcadores importantes das primeiras etapas da adipogénese
Adipsina	Bloqueio da diferenciação
Factor de crescimento dos fibroblastos	Aumento da densidade dos percursores de adipócitos castanhos
Factor de crescimento insulina <i>like</i> (IGF-1)	Estimulação do recrutamento dos adipóctios castanhos
Adenosina	Inibição da termogénese
Parácrino	
<i>Nerve growth factor</i>	Formação das terminações nervosas
Factor de crescimento endotelial vascular (VEGF)	Manutenção do nível de vascularização
Óxido nítrico	Inibição o metabolismo mitocondrial
Angiotensinogénio	Aumento da libertação de noradrenalina

Tabela III - Acção autócrina e parácrina do TAC (Cannon e Nedergaard, 2004).

3.3.2.1 Actividade endócrina

Ácidos Gordos (AGs)

Durante experiências *in vitro* foi possível perceber que durante a estimulação máxima do TAC, a actividade lipolítica aumenta de tal forma, que parte dos AGs escapa ao normal metabolismo, sendo libertados na circulação. No entanto, ainda não foi possível perceber se a quantidade de AGs libertada tem significado fisiológico ou se representa apenas um mero balanço entre a actividade lipolítica e a capacidade termogénica dos adipócitos castanhos (Cannon e Nedergaard, 2004).

Leptina

A correcção homeostática de um aumento do tecido adiposo (sinalizado pela leptina) pode, pelo menos teoricamente, resultar numa diminuição do apetite e/ou aumento da despesa energética (Mohamed-Ali, 1998). Em experiências conduzidas em animais, a leptina mostrou-se capaz de diminuir o apetite e aumentar a despesa energética através da estimulação do metabolismo basal e da termogénese induzida pelos alimentos. A ligação da leptina a receptores localizados no sistema nervoso central induz um aumento da actividade do sistema nervoso simpático com consequente estimulação da libertação de noradrenalina em terminais situados no tecido adiposo. Neste tecido a noradrenalina provoca um aumento da lipólise, no entanto, no TAC, tem outro efeito muito importante: a síntese de UCP1. Assim, ao induzir um aumento da UCP1 na membrana interna das mitocôndrias do TAC, permite que a oxidação dos nutrientes aumente de forma independente da velocidade de hidrólise do ATP. Este aumento da despesa energética é independente da actividade física voluntária e reflecte-se num aumento da taxa metabólica basal e no efeito termogénico dos alimentos. (Mohamed-Ali, 1998; Cannon e Nedergaard, 2004)

Adiponectina e Resistina

A adiponectina é libertada tanto no TAB como no TAC sendo neste último regulada negativamente pela estimulação adrenérgica (Cannon e

Nedergaard, 2004). Esta hormona, além da conhecida acção sistémica, permite, a nível do TAC, activar o PPAR γ com concomitante aumento da massa deste tecido e da expressão de UCP1 (Yang et al, 2003).

A associação da resistina com o TAC ainda carece de confirmação científica, todavia há relatos da expressão desta hormona neste tecido (Cannon e Nedergaard, 2004).

Triiodotironina (T_3)

A conversão da tiroxina (T_4) em T_3 ocorre por acção das deiodinases. Uma destas enzimas, a deiodinase tipo 2, está presente no TAC e a sua actividade é regulada por acção adrenérgica.

A T_3 parece apresentar tanto efeito autócrino como endócrino. A nível do tecido adiposo castanho esta hormona está implicada no processo de regulação da expressão genética da UCP1. O papel endócrino das hormonas tiroideias é sobejamente conhecido, embora seja de salientar que experiências em roedores demonstraram que o TAC pode ser responsável pela conversão de metade da quantidade total de T_4 . Alguns estudos demonstraram também que na ausência da deiodinase tipo 2 (presente no TAC), os níveis de T_3 mantêm-se dentro do normal. Assim, o significado fisiológico da conversão das hormonas tiroideias neste tecido é ainda pouco conhecido (Cannon e Nedergaard, 2004).

Papel do TAC na regulação da resistência à insulina

Recentemente a equipa de Yang (2003) montou uma experiência para tentar perceber a possível influência da quantidade basal de TAC e a regulação da acção da insulina. Para isso, analisaram o FOXC2 e outros genes envolvidos no processo de diferenciação do TAC, procurando demonstrar a relação com sensibilidade à insulina.

A transcrição do factor FOXC2, implicado na indução de um fenótipo *gordura castanha like* nas células de TAB (ver secção 2.2), foi associado ao processo de regulação da sensibilidade à insulina (Yang et al, 2003). Experiências *in vitro* (Yang et al, 2003) demonstraram que um aumento da

expressão deste factor a nível do tecido adiposo subcutâneo é capaz de melhorar a sensibilidade à insulina. No entanto, *in vivo* a sensibilidade da insulina é preferencialmente correlacionada com a expressão do conjunto de genes que codificam o TAC, não existindo relação directa com a expressão do FOXC2 (Yang et al, 2003). Estes resultados permitem especular que a diminuição da capacidade para recrutar adipócitos castanhos, possivelmente regulada pelo FOXC2, aumenta o risco de desenvolvimento de resistência à insulina (Yang et al, 2003).

Neste estudo (Yang et al, 2003), foi também possível encontrar uma correlação inversa entre a quantidade de tecido adiposo (TAB e TAC) e a expressão dos genes promotores do fenótipo *gordura castanha like*. Assim, *in vivo*, a expressão destes genes está relacionada com quantidade de tecido adiposo (TAB e TAC) e a sensibilidade à insulina. Desta forma, podemos deduzir que a resistência à insulina está associada à diminuição do TAC e/ou ao balanço entre este e o TAB (Yang et al, 2003).

Um estudo publicado pela equipa de Hondares *et al* (2006) mostrou que as tiazolidinedionas (TZDs), importantes fármacos sensibilizadores da insulina, são capazes de promover um fenótipo *gordura castanha like* nos depósitos adiposos através da activação da via do gene PGC1 α . Ao aumentar o fenótipo *gordura castanha like*, as TZDs, promovem um aumento da actividade mitocondrial oxidativa com consequente diminuição dos ácidos gordos livres, o que permite reduzir a lipotoxicidade sistémica. Assim, estes investigadores concluíram que esta actividade sobre o tecido adiposo poderia representar um dos elementos major da acção das TZDs no processo de regulação da sensibilidade à insulina, reforçando assim a importância do TAC neste complexo processo de regulação metabólica.

3.4 Presença de TAC funcional no homem adulto

É unanimemente aceite que o TAC está presente nos recém-nascidos, sendo importante na manutenção da temperatura corporal através da termogénese *nonshivering* (Cannon e Nedergaard, 2004). No entanto, nos últimos anos, era também consensual que este tecido involuiria rapidamente

durante os primeiros anos de vida, tornando-se vestigial na idade adulta (Cannon e Nedergaard, 2004).

A involução deste tecido era justificada por dois princípios simples. Por um lado, o adulto apresenta uma razão superfície/volume inferior ao recém-nascido tendo por isso menor termodispersão (Cannon e Nedergaard, 2004; Cinti, 2006). Por outro lado, o adulto apresenta maior taxa metabólica e maior massa muscular, sendo capaz de regular eficazmente a temperatura através da termogénese *shivering* (Cannon e Nedergaard, 2004; Cypess *et al*, 2009).

Apesar de terem surgido alguns estudos que mostravam a presença de TAC em trabalhadores cronicamente expostos ao frio (Huttunen *et al*, 1981), e em doentes com feocromocitoma (English *et al*, 1973), estas evidências foram tidas como exceções, não alterando a ideia que o adulto saudável não necessitava de TAC (Cannon e Nedergaard, 2004).

Apesar desta perspectiva ter sido aceite como dogma científico, em 2002 estudos paralelos de medicina nuclear, envolvendo imagens obtidas por FDG-PET/TC, apresentaram resultados surpreendentes, desafiando a corrente científica que assumia a inexistência de TAC no homem adulto (Nedergaard *et al*, 2007).

A implementação gradual da PET no estudo oncológico de rotina permitiu encontrar, em alguns doentes, um padrão simétrico de captação de glicose a nível do pescoço e região supraclavicular. O facto de apresentar simetria afastou a hipótese de neoplasia, contudo através da imagem da FDG-PET isolada é praticamente impossível perceber qual a natureza dos tecidos onde há captação de FDG (Nedergaard *et al*, 2007). Desta forma, este achado foi inicialmente atribuído a tensão muscular mas o avanço científico permitiu a utilização da TC em associação com a FDG-PET, possibilitando a análise mais detalhada dos tecidos (Nedergaard *et al*, 2007).

Assim, através da TC foi possível perceber que estes depósitos cervicais e supraclaviculares, apresentam uma densidade idêntica ao tecido adiposo, afastando a hipótese de se tratar de tecido muscular (Nedergaard *et al*, 2007). Apesar de vários estudos anteriores (Gesta *et al*, 2007; Cannon e Nedergaard,

2004) terem descrito presença de TAC em zonas idênticas às encontradas nestes estudos, o facto deste tecido ser considerado vestigial no adulto, levantou muitas dúvidas na comunidade científica, pelo que estas zonas foram inicialmente denominadas por áreas adiposas de captação de FDG a nível supraclavicular (uptake localizing to the supraclavicular area - *USA-fat*) (Nedergaard et al, 2007).

Embora fosse controverso assumir que estes depósitos correspondiam a TAC, várias evidências apontavam neste sentido. Em primeiro lugar, o hibernoma (neoplasia, normalmente benigna, de adipócitos castanhos) é claramente visível no FDG-PET (Lin *et al*, 2005 in Nedergaard *et al*, 2007). Em segundo lugar, nos doentes com feocromocitoma, tido como um tumor capaz de aumentar a actividade adrenérgica estimulando os adipócitos castanhos (English *et al*, 1973; Cannon e Nedergaard, 2004), é possível a identificação de áreas de TAC com aumento de captação de glicose (Fukuchi *et al*, 2004 in Cypess *et al*, 2009). Após remoção do feocromocitoma estas áreas de TAC hipercaptante desaparecem (Fukuchi et al, 2004 in Cypess *et al*, 2009), o que pode ser explicado pela diminuição da estimulação adrenérgica (Cannon e Nedergaard, 2004). Em terceiro lugar, experiências em ratos demonstraram que a capacidade para captação de glicose é 50 vezes maior no TAC do que nos depósitos brancos envolventes (Baba *et al*, 2007 in Cypess et al, 2009), afastando a hipótese destes achados estarem relacionados com captação de FDG pelo TAB.

Todas estas evidências permitiram que a *USA-fat* passasse a ser reconhecida no seio da medicina nuclear como tecido adiposo castanho (Chang *et al*, 2006; Griffeth, 2005 in Nedergaard *et al*, 2007). No entanto, como o objectivo da PET não é a detecção de TAC, estes depósitos continuavam a ser vistos como falsos-positivos.

Desta forma, e considerando que as evidências em ratos (Cannon e Nedergaard, 2004) e em humanos (Huttunen et al, 1981; Cypess et al, 2009; Lichtenbelt et al, 2009) mostravam que a exposição ao frio era uma das principais formas de activação do TAC, os investigadores em medicina nuclear demonstraram que os doentes devem ser mantidos a uma temperatura alta, de

forma a minimizar a interferência do tecido adiposo castanho (Nedergaard *et al*, 2007).

Considerando estas evidências, surgiram vários estudos que procuraram perceber qual a prevalência de TAC no adulto; contudo, foi possível perceber que os resultados de estudos retrospectivos eram bastante variáveis.

Os primeiros estudos apresentavam uma prevalência que variava de 25%, numa população de doentes com linfoma (Döbert, *et al* 2004), a 80% num grupo de 33 doentes com patologia mamária (Rousseau, *et al* 2006). Neste último estudo foram avaliadas cinco FDG-PET/TC sucessivas em cada doente de forma a avaliar a reprodutibilidade deste achados. Foi possível perceber que alguns doentes apresentavam evidências de TAC numa primeira avaliação, mas não nas avaliações subsequentes, sendo o contrário também válido, isto é, doentes sem TAC no primeiro exame poderiam apresentá-lo numa segunda análise (Rousseau, *et al* 2006).

Recentemente um grande estudo retrospectivo, realizado pela equipa de Cypess, analisou 3640 FDG-PET/CT realizadas em 1972 doentes na sequência de diferentes patologias, procurando evidências da presença de TAC. Neste estudo, foi possível identificar depósitos de TAC em 5,4% dos doentes estudados, existindo predominância do sexo feminino com 7,5% em relação ao masculino (3.1%) (Cypess *et al*, 2009).

Todos os resultados destes estudos retrospectivos devem ser vistos como uma subestimação da real quantidade de TAC, uma vez que todos os doentes estiveram em jejum e sob temperatura alta, o que condiciona, uma diminuição da activação do TAC (Nedergaard *et al*, 2007). De facto, experiências em ratos demonstraram que quando estes se encontram num ambiente termo-neutro, não necessitando da termogénese *nonshivering*, o estado nutricional surge como o factor mais importante na determinação da actividade do TAC, estando o jejum associado a menor estimulação (Cannon e Nedergaard, 2004; Nedergaard *et al*, 2007). Além disso, como a maioria dos estudos se baseia em resultados obtidos a partir de um único exame por doente, podemos estimar que a real prevalência do TAC no homem adulto é substancialmente maior (Nedergaard *et al*, 2007).

Apesar destes estudos retrospectivos baseados nas imagens obtidas por FDG-PET/TC mostrarem evidências claras da presença de TAC, era necessário desenhar estudos específicos para a detecção deste tecido.

Assim, em 2009 dois estudos independentes analisaram as áreas supraclavicular, cervical e para-vertebral através da FDG-PET/CT, após estimulação pelo frio, e demonstraram a presença de TAC metabolicamente activo numa percentagem considerável dos doentes (33-96%) (Lichtenbelt *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009). Para confirmar que se tratava efectivamente de TAC foram realizadas biópsias dirigidas por FDG-PET/CT, tendo todas elas apresentado características morfológicas, bioquímicas e moleculares típicas deste tecido (Cypess *et al*, 2009; Lichtenbelt *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009; Virtanen *et al*, 2009).

Estes novos estudos desenhados de raiz para detecção de TAC permitiram confirmar, em definitivo, que o homem adulto, essencialmente nas faixas etárias mais jovens, apresenta importantes depósitos de TAC (Lichtenbelt *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009; Seale e Lazar, 2009).

Outro importante dado a reter a partir destes estudos, é que a activação do TAC no homem está intimamente ligada à estimulação pelo frio (Cypess *et al*, 2009; Lichtenbelt *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009). O estudo retrospectivo feito pela equipa de Cypess, tinha já sugerido uma relação inversa entre a temperatura exterior (obtida através dos registos meteorológicos) e a presença de TAC (Cypess *et al*, 2009). Esta visão foi posteriormente confirmada pelo estudo de Lichtenbelt (2009), que verificou a presença de TAC em 96% dos pacientes expostos a temperaturas baixas, enquanto sob condições termo-neutras estes mesmos pacientes não mostravam evidência de TAC activo.

4. Perspectiva terapêutica

4.1 TAC como arma anti-obesidade

Apesar de ser descrito em alguns mamíferos desde 1551, só se percebeu que o TAC está presente em todos os mamíferos no decorrer do último século. A capacidade para produzir calor foi demonstrada já no decorrer dos anos 50, no entanto, a identificação da UCP1 e a percepção de que este tecido poderia ter implicações metabólicas importantes (ex: possível arma contra a obesidade) só foi considerada nos últimos 20 anos (Cannon e Nedergaard, 2004).

No início dos anos 70, surgiram algumas experiências em roedores que demonstraram que ratos submetidos a dietas hipercalóricas (denominadas *cafeteria diets*) apresentavam hipertrofia e aumento de função do TAC (Cannon e Nedergaard, 2004). Este mecanismo, denominado por termogénese induzida pela dieta, funcionaria como aparente adaptação fisiológica para tentar restringir o aumento de peso (Rothwell e Stock, 1979).

Estudos subsequentes, permitiram verificar que a estimulação do tecido adiposo castanho, evitava efectivamente o aumento do peso em ratos submetidos a dieta hipercalórica (Ghorbani e Himms-Hagen, 1997; Xue et al, 2007; Ursino et al, 2009). Além disso, foi também comprovado que a ablação génética do TAC ou a supressão da expressão de UCP1, tornava os ratos mais propensos a aumentar de peso (Lowell et al, 1993; Feldmann et al, 2009).

Era sabido que, nos ratos, o TAC podia ser estimulado, não só pela ingestão alimentar excessiva (Rothwell e Stock, 1979), mas também pela exposição crónica ao frio, dado que a principal função deste tecido é a manutenção da temperatura corporal (Cannon e Nedergaard, 2004). Vários agonistas dos receptores β_3 -adrenérgicos e agonistas dos receptores da tiróide, enquanto fármacos capazes de estimular o TAC, mostraram-se também capazes de reduzir o aumento do peso em ratos (Ghorbani e Himms-Hagen, 1997; Ursino et al, 2009).

Todos estes estudos em roedores mostraram viabilidade na utilização do TAC como possível arma contra a obesidade, pelo que se procurou aplicar estas evidências no homem.

Vários estudos analisados por Wijers *et al* (2009), demonstraram variabilidade interindividual no aumento de peso após ingestão calórica excessiva. Nestes estudos, a quantidade de energia ingerida e a necessária para o metabolismo basal foram cuidadosamente controladas de forma que todos participantes tivessem o mesmo balanço energético diário (Wijers *et al*, 2009). Assim, como a energia excedente é *standardizada* para todos os indivíduos, a diferença no aumento de peso para cada um deles, poderia ser, pelo menos em parte explicada pelo aumento variável dos gastos energéticos em resposta ao aumento calórico (Wijers *et al*, 2009).

Esta resposta, denominada por termogénese induzida pela dieta, apresenta dois componentes: obrigatório e facultativo (Wijers *et al*, 2009). O componente obrigatório representa os gastos energéticos associados à digestão, absorção e processamento dos alimentos, enquanto o componente facultativo está relacionado com o aumento do gasto energético para evitar a acumulação excessiva de energia. Este último, poderá estar intimamente relacionado com a actividade do TAC, no entanto, a sua contribuição para este mecanismo ainda não foi totalmente esclarecida (Seale e Lazar, 2009; Wijers *et al*, 2009).

De facto, vários estudos procuraram demonstrar o peso do TAC no metabolismo humano. Um estudo realizado por Rothwell e Stock em 1983 demonstrou que 50g de TAC, em actividade máxima, representam 20% do total da energia dispendida por um indivíduo em repouso. Um estudo mais recente demonstrou que, apesar da média de energia dispendida pelo TAC durante a termogénese nonshivering ser 11,8%, existe muita variabilidade individual (Claessens-van Ooijen *et al*, 2006).

A equipa de Virtanen (2009) mostrou também o potencial papel do TAC no metabolismo do adulto através de um exemplo. Num dos indivíduos estudados, foi encontrado um depósito de TAC com cerca de 63g, capaz de captar 11mmol de glicose num período de 24h. Considerando que a glicose representa apenas 10% do substrato metabólico dos adipóctios castanhos, sendo os ácidos gordos a *matéria-prima* principal (Cannon e Nedergaard, 2004), este depósito de TAC é capaz de consumir energia equivalente a aproximadamente 4,1kg de gordura no decurso de um ano (Virtanen *et al*, 2009).

Se considerarmos vários estudos que mostram que pequenas variações energéticas implicam importantes alterações a longo prazo no peso corporal, conseguimos perceber que este pequeno contributo do TAC pode ser decisivo para a prevenção do aumento de peso (Hill *et al*, 2003; Hainer *et al*, 2008; Ravussin *et al*, 1988). Além disso, *guidelines* baseadas na evidência reconheceram benefícios clínicos na perda moderada (5-10%) de peso (Hainer *et al*, 2008).

Recentemente, vários estudos (Cypess *et al*, 2009; Lichtenbelt *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009) demonstraram também que a actividade do TAC varia na razão inversa do índice de massa corporal (IMC), da proporção de gordura e da idade.

A equipa de Cypess (2009), no seu grande estudo retrospectivo, conseguiu encontrar relação inversa entre o TAC e o IMC, essencialmente, na faixa etária mais alta. O estudo de uma população jovem (18-32 anos) por Lichtenbelt (2009), permitiu perceber que esta relação com o IMC é também evidente em indivíduos mais jovens. Posteriormente, um estudo realizado no Japão (Saito *et al*, 2009), não só reafirmou esta relação inversa com o IMC como mostrou que os indivíduos com maior proporção de gordura visceral apresentam menor activação do TAC. Neste último estudo, foi também possível confirmar a ideia já transmitida por outros estudos (Cinti, 2006; Nedergaard *et al*, 2007; Cypess *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009), que mostravam que com o avançar da idade a actividade do TAC era mais baixa. No entanto, foi possível perceber que nesta faixa etária mais avançada, apesar da quantidade de TAC ser menor, a relação inversa com o IMC mantém-se (Saito *et al*, 2009).

Langin (2010) propôs que esta relação poderia ter dois significados. Por um lado, considerou que um defeito na formação/estimulação do TAC estaria na origem da predisposição para o aumento de peso, sendo esta teoria corroborada por estudos genéticos baseados na expressão de UCP1 (Gonzalez-Barroso *et al*, 2000 in Langin, 2010). Por outro lado, sugeriu que, nos obesos, o aumento do número de adipócitos brancos poderia isolar as populações de adipócitos *gordura castanha like* levando à sua supressão.

Assim, torna-se evidente que o TAC está intimamente relacionado com a manutenção do peso corporal, através da regulação do balanço energético (Seale e Lazar, 2009; Saito *et al*, 2009). Além disso, o facto de se terem encontrado evidências que sugerem uma relação inversa com a quantidade de gordura visceral, tida como principal depósito associado às complicações metabólicas da obesidade (Haslam e James, 2005; Gesta *et al*, 2007), permite-nos inferir sobre a possível utilização do TAC como estratégia preventiva para a formação destes depósitos adiposos (Saito *et al*, 2009).

Podemos ainda deduzir que a diminuição da actividade do TAC com a idade pode explicar, pelo menos em parte, a tendência para aumentar de peso com o avançar dos anos (Seale e Lazar, 2009; Saito *et al*, 2009).

Estes resultados parecem compatíveis com os observados em roedores, demonstrando que o TAC desempenha um papel importante na regulação do peso corporal do homem adulto. Assim, é possível criar estratégias que permitam aumentar a quantidade e actividade do TAC por forma a reduzir o aumento de peso e, consequentemente, a obesidade.

As estratégias mais plausíveis para aumentar a despesa energética recorrendo às propriedades do TAC podem ser divididas em duas grandes vertentes. Por um lado, podemos aumentar a actividade do TAC existente e por outro, podemos favorecer a diferenciação dos adipócitos castanhos através da activação do seu programa genético específico (Frühbeck *et al*, 2009a; Seal *et al*, 2009; Cypess e Kahn, 2010).

4.2 Estratégias que permitem estimular o TAC existente

Tendo em conta que a estimulação do TAC está a cargo do sistema simpático adrenérgico (Cannon e Nedergaard, 2004) vários estudos procuraram utilizar esta via para aumentar a sua actividade no homem.

A incapacidade para demonstrar o efeito da efederina (simpaticomimético) e dos agonistas- β_3 (agonista simpático) na estimulação da actividade do TAC no homem adulto, limitou esta corrente de investigação

(Arch, 2008; Ravussin e Kozak, 2009). No entanto, estes fracassos foram sempre explicados pelo aparente número reduzido de adipócitos castanhos (Astrup *et al*, 1984 e 1985; Ravussin e Kozak, 2009).

Os novos dados obtidos por FDG-PET/TC mostraram que os principais depósitos de TAC se localizam nas regiões supraclavicular, cervical e para-vertebral (Nedergaard *et al*, 2007; Cypess *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009). Estas evidências podem explicar o resultado de algumas experiências que utilizaram o depósito interescapular (Astrup *et al*, 1984) e perirrenal (Astrup *et al*, 1985) para demonstrar a ineficácia da estimulação de TAC no homem adulto (Nedergaard *et al*, 2007). Além disso, não podemos esquecer vários estudos que sugeriram a possibilidade do TAC ser estimulado pelo sistema adrenérgico em doentes com feocromocitoma (English *et al*, 1973; Fukuchi *et al*, 2004 in Cypess *et al*, 2009).

Assim, considerando o aumento do TAC em doentes com feocromocitoma, os óptimos resultados apresentados pelos agonistas simpáticos nos modelos animais e as crescentes evidências que demonstram alguns erros em várias das experiências anteriores, podemos considerar que a estimulação do TAC é, pelo menos em teoria, uma estratégia viável para aumentar os gastos energéticos e assim regular o balanço energético (Arch, 2008; Frühbeck *et al*, 2009a; Cypess e Kahn, 2010).

Actualmente, as estratégias de estimulação do TAC com maior potencial baseiam-se nos agonistas dos receptores adrenérgicos β_3 , na efederina e nos ácidos bilares (Cypess e Kahn, 2010).

4.2.1 Agonistas β_3

Nos ratos, os receptores β_3 foram já amplamente estudados, pelo que o seu papel fisiológico está agora bem definido. Estes receptores representam o sub-tipo predominante tanto nos adipócitos brancos como castanhos, sendo capazes de impedir o aumento de peso quando estimulados por agonistas β_3 (Cannon e Nedergaard, 2004; Ursino *et al*, 2009). Este efeito anti-obesidade pode ser resumido em três grandes processos: (1) aumento da lipólise, (2)

aumento da oxidação de gordura e (3) aumento da termogénese adaptativa do TAC (Cannon e Nedergaard, 2004; Ursino *et al*, 2009). Além deste efeito anti-obesidade, foi também possível perceber que os agonistas β_3 apresentavam um efeito anti-diabético independente, possivelmente associado ao aumento da sensibilidade à insulina (ver secção 3.3.2.1) (Ursino *et al*, 2009).

Estes efeitos dos agonistas β_3 nos ratos aumentaram o interesse da aplicação destes compostos no homem, no entanto, os primeiros ensaios clínicos foram desapontadores (Arch, 2008; Ravussin e Kozak, 2009; Ursino *et al*, 2009; Cypess e Kahn, 2010). A explicação para estes resultados reside tanto na fraca selectividade dos agonistas utilizados como na diferente distribuição do tecido adiposo e dos próprios receptores β -adrenérgicos no homem (Ursino *et al*, 2009).

De facto, apesar de ter sido demonstrada a presença de receptores β_3 nos adipócitos do homem (Cypess e Kahn, 2010), experiências recentes permitiram demonstrar que a activação da termogénese em humanos pode estar associada a diferentes receptores β -adrenérgicos, uma vez que, o propranolol diminui a captação de glicose nas zonas de TAC visíveis através da FDG-PET/TC (Nedergaard *et al*, 2007; Cypess *et al*, 2009). Tendo em conta que este fármaco é mais selectivo sobre os receptores β_1 do que sobre receptores os β_3 , falta ainda esclarecer qual dos receptores está preferencialmente associado ao processo de estimulação do TAC no homem (Nedergaard *et al*, 2007).

A estimulação da lipólise através dos agonistas selectivos β_1 e dos agonistas não-selectivos $\beta_{1/2}$ foi já amplamente demonstrada (Arch, 2008), embora experiências recentes (van Baak *et al*, 2002) demonstrassem também que uma nova geração de agonistas β_3 (L-796568) é capaz de aumentar a lipólise e o gasto energético em indivíduos obesos. Apesar de uma única dose (1000mg) de L-796568 ser capaz de estimular o tecido adiposo, a administração diária deste fármaco, durante 28 dias, não mostrou diminuição significativa da massa adiposa (Arch, 2008).

Estas evidências demonstram que a utilização dos agonistas β_3 como fármacos anti-obesidade está ainda distante, no entanto, devemos considerar que todos estes estudos foram prévios à descoberta da FDG-PET/TC como

método de visualização directa da actividade do TAC. Assim, é possível que os próximos estudos com agonistas β_3 utilizem esta tecnologia para avaliar a real capacidade de activação do TAC (Cypess e Kahn, 2010).

4.2.3 Efederina

A efederina pertence a um conjunto de alcalóides simpaticomiméticos derivados da *Ephedra*, um arbusto originário da China e Mongólia (Diepvens *et al*, 2007; Cypess e Kahn, 2010). A capacidade de induzir o processo de termogénese adaptativa é mediada não só pelo aumento da libertação de NE, mas também pela acção directa sobre os receptores β -adrenérgicos (Diepvens *et al*, 2007).

A administração de efederina isolada mostrou-se capaz de aumentar os gastos energéticos permitindo a redução de peso, no entanto, apenas os estudos a curto termo mostraram resultados inequívocos (Diepvens *et al*, 2007; Cypess e Kahn, 2010). Os resultados contraditórios observados nos estudos de administração crónica de efederina levaram os cientistas a ponderar a associação de cafeína, tida como potenciador do efeito termogénico da efederina (Diepvens *et al*, 2007). Os resultados desta associação foram bastante promissores, mostrando óptimos resultados mesmo a longo prazo. Contudo, os efeitos adversos cardiovasculares, gastrointestinais e psiquiátricos, induzidos pelo conjunto de alcalóides *Ephedra* impediram a comercialização deste fármaco (Diepvens *et al*, 2007).

Estudos posteriores contrariaram o real impacto destes efeitos laterais, relançando esta corrente de investigação no combate à obesidade (Diepvens *et al*, 2007).

4.2.4 Ácidos biliares

Até há bem pouco tempo os ácidos biliares eram vistos como meros emulsionadores das gorduras, todavia, nos últimos anos várias evidências permitiram perceber que eles participam também em várias vias reguladores do

metabolismo (Jansen, 2010). Assim, actualmente são reconhecidos aos ácidos biliares a capacidade de activação da via mitogénica da proteína cinase, da ligação à família das proteínas G acopladas a receptores (essencialmente o TGR5) e da activação receptores nucleares hormonais como o FXR- α (Watanabe *et al*, 2006).

O receptor TGR5, pertencente à família das proteínas G acopladas a receptores, está presente em vários tecidos. A sua activação no músculo esquelético e TAC humano apresenta especial interesse porque permite a estimulação das hormonas tiroideias através da activação da deiodinase tipo 2, aumentando a actividade mitocondrial e o consumo de oxigénio com consequente aumento dos gastos energéticos (Watanabe *et al*, 2006; Jansen, 2010).

A descoberta de um agonista específico (INT-777) para o receptor TGR5, permitiu perceber que os ácidos biliares são capazes de aumentar a produção de *glucagon-like* peptido-1 (GLP-1), hormona intimamente associada à regulação da homeostasia da glicose (Jansen, 2010). Evidências obtidas em estudos *in vivo* mostraram que através da activação da via do GLP-1 é possível melhorar a função hepática e pancreática com consequente diminuição da resistência à insulina em ratos obesos (Jansen, 2010). Um estudo recente (Jansen, 2010) estendeu estas evidências ao homem, sugerindo que a melhoria do perfil glicémico nos doentes obesos, após cirurgia bariátrica, pode ser explicada pelo aumento dos ácidos biliares e consequente estimulação dos receptores TGR5.

Assim, estas evidências sugerem que os agonistas dos receptores TGR5, através do aumento do metabolismo e da regulação da secreção de GLP-1, são fármacos promissores no tratamento da obesidade e da diabetes tipo 2 (Jansen, 2010). Todavia, são necessários mais estudos que permitam perceber se esta é efectivamente uma estratégia viável para o combate destes graves problemas de saúde pública (Jansen, 2010).

4.3 Estratégias de activação do programa de diferenciação do TAC

A recente turbulência científica em torno da origem e diferenciação dos adipócitos permitiu encontrar múltiplos factores capazes de promover a expressão selectiva de parte do património genético castanho (Seal *et al*, 2009; Enerbäck, 2009). Estas novas evidências permitiram a introdução de uma nova estratégia de abordagem do TAC como arma anti-obesidade, baseada no aumento da sua quantidade em vez da tentativa de hiperestimulação clássica (Frühbeck *et al*, 2009a; Seal *et al*, 2009; Cypess e Kahn, 2010).

O PRDM16 (ver secção 3.1 e 3.2) considerado um factor fundamental na diferenciação selectiva dos adipócitos castanhos é visto como uma possível abordagem terapêutica. A sintetização química ou a descoberta de substâncias endógenas capazes de estimular a transcrição deste factor podem permitir a diferenciação aumentada de adipócitos castanhos (Frühbeck *et al*, 2009a; Seal *et al*, 2009; Cypess e Kahn, 2010; Langin, 2010). É importante realçar que a acção desta molécula nos tecidos extra-adiposos é ainda pouco conhecida (Seal *et al*, 2009), existindo mesmo relatos de leucemias em que os linfócitos apresentam expressão exagerada do factor PDRM16 (Seal *et al*, 2009).

Além disso, verificou-se que ratos com o gene do PRDM16 desactivado morrem à nascença, pelo que é necessário tentar perceber qual o papel exacto deste factor na embriogénese, de forma a prevenir possíveis implicações sistémicas da sua expressão *in vivo* (Ravussin e Kozak, 2009; Cypess e Kahn, 2010; Langin, 2010; Celi, 2009).

Tseng *et al* (2008) demonstraram que a BMP-7 é capaz de induzir um completo programa de diferenciação dos adipócitos castanhos através da regulação positiva do PRDM16. Assim, a sua utilização *in vivo* pode promover o aumento da quantidade e actividade do TAC permitindo maiores gastos energéticos e diminuição da predisposição para a obesidade (Cypess e Kahn, 2010; Langin, 2010; Celi, 2009). Todavia, a sua acção sistémica deve ser cuidadosamente monitorizada porque enquanto *bone morphogenetic protein*, a BMP7 pode desempenhar importantes funções na osteogénese e angiogénese (Langin, 2010). Cypess e Kahn (2010) revelaram que já existem em curso estudos para determinar se os implantes espinhais de BMP7, realizados em

várias cirurgias de fusão vertebral, apresentam algum efeito no TAC e na regulação do peso corporal.

Langin (2010) mostraram que a expressão ectópica de PGC1 α na gordura subcutânea humana é capaz de induzir o aumento de marcadores dos adipócitos castanhos como a UCP1 e várias outras proteínas da cadeia respiratória, do ciclo de Krebs e da oxidação dos AGs. Além disso, o PGC1 α promove a expressão da glicerol cinase nos adipócitos brancos, normalmente desprovidos desta enzima. A presença desta enzima a nível do tecido adiposo torna possível a renovação directa do glicerol permitindo a hidrólise completa dos TGs através de um ciclo TGs/AGs. Assim, a expressão do PGC1 α através da estimulação da oxidação e do ciclo futil dos ácidos gordos pode trazer benefícios para a regulação lipídica.

Neste mesmo estudo de Langin (2010) foi possível perceber que o PPAR α , preferencialmente expresso no TAC, estava aumentado nos adipócitos brancos com expressão ectópica de PGC1 α . A estimulação com agonistas do PPAR α mostrou a capacidade desta via para aumentar a oxidação lipídica e o ciclo futil dos ácidos gordos de forma independente da expressão do PGC1 α .

Assim, o PGC1 α e o PPAR α surgem como alvos interessantes para a conversão de adipócitos brancos em adipócitos com fenótipo *gordura castanha like*, capazes de aumentar o gasto energético através da metabolização lipídica (Langin, 2010)

Tal como abordado na secção 3.2, o processo de diferenciação dos adipócitos castanhos apresenta uma complexa rede de factores de transcrição, não existindo ainda um modelo definitivo que demonstre todas as moléculas envolvidas nas várias vias de sinalização (Frühbeck et al, 2009a). Assim, a utilização destas vias, *in vivo*, é bastante arriscada dada a imprevisibilidade das implicações sistémicas (Cypess e Kahn, 2010; Langin, 2010; Celi, 2009).

Para evitar estas implicações sistémicas vários cientistas propuseram a manipulação *ex-vivo* dos pré-adipócitos com posterior injeção/transplante dos mesmos em zonas pretendidas (Frühbeck *et al*, 2009b; Kajimura et al, 2009). A primeira fase deste procedimento consiste na recolha e isolamento de

precursores adiposos através de lipossucção ou biópsia muscular. Depois de isolados é induzida a diferenciação em adipócitos castanhos, recorrendo aos reconhecidos factores associados a este processo (ex: PRDM16, BMP7, PGC1 α , entre outros). De seguida, estes adipócitos são reintroduzidos no organismo de forma a continuar o processo de expansão *in vivo* (Cypess e Kahn, 2010).

Esta abordagem foi apoiada pelas recentes evidências que consideram que o tecido adiposo apresenta uma elevada taxa de *turnover*, permitindo a renovação de 10% da massa adiposa no decurso de um ano (Frühbeck et al, 2009a). Apesar de surgir como uma estratégia válida, a manipulação *ex vivo* está ainda limitada pela indefinição quanto aos exactos precursores dos adipócitos castanhos (ver secção 3.1) (Frühbeck et al, 2009a; Cypess e Kahn, 2010; Langin, 2010). Além disso, este procedimento é ainda uma sugestão teórica sendo necessário iniciar estudos controlados que permitam perceber a viabilidade desta abordagem, até porque não há certezas que estes adipócitos auto-transplantados sejam activos e capazes de aumentar o metabolismo energético *in vivo* (Frühbeck et al, 2009a; Cypess e Kahn, 2010).

5. Conclusão

A escalada assustadora da prevalência da obesidade transforma o seu tratamento num dos grandes desafios do presente século. Uma simples pesquisa no reputado motor de busca científico *Pubmed*, permite encontrar mais de 60 mil resultados com as palavras chave “tratamento” e “obesidade”. Através de uma análise aprofundada destes resultados percebemos que o tratamento farmacológico da obesidade se mantém estagnado desde há vários anos, uma vez que, a grande maioria dos fármacos propostos acabam por não conseguir mostrar resultados interessantes (Haslam *et al*, 2005; Hainer *et al*, 2008).

Alguns especialistas (Hill *et al*, 2003; Haslam *et al*, 2005) apontam o ambiente *obesogénico* da sociedade actual como principal precipitante da crescente epidemia de obesidade. Assim, esta epidemia reflecte a progressiva falta de actividade física e a ingestão alimentar acima do limiar neurobiológico estabelecido pelos processos endócrinos de regulação da homeostasia energética (Haslam *et al*, 2005).

Apesar da origem estar definida, as várias estratégias implementadas para tentar promover hábitos de vida saudáveis prevenindo o aumento de peso não têm apresentado grandes resultados. Assim, a comunidade científica procurou encontrar soluções que equilibrassem a balança energética reduzindo o aporte e/ou aumentando o gasto energético.

A utilização do TAC para aumentar o gasto energético foi desde muito cedo colocada em cima da mesa, contudo, todas as tentativas esbarraram na aparente insignificância deste tecido no metabolismo do adulto. Na última década, a capacidade de detecção do TAC através da FDG-PET/TC permitiu derrubar definitivamente o dogma científico que assumia a involução quase total deste tecido após a infância.

Além desta nova perspectiva sobre a importância do TAC no adulto, vários estudos (Cypess *et al*, 2009; Lichtenbelt *et al*, 2009; Saito *et al*, 2009) permitiram encontrar resultados bastante interessantes, mostrando que a quantidade deste tecido varia na razão inversa do IMC, da proporção de

gordura e da idade. Estes resultados sugeriram portanto uma ligação óbvia entre o TAC e o aumento de peso.

No seguimento destes estudos, Virtanen (2009) demonstrou que 63g de TAC são capazes de eliminar o equivalente a 4kg de gordura no decurso de um ano. Considerando que a maioria dos obesos não apresenta um desequilíbrio energético muito elevado (Seal *et al*, 2009) a contribuição do TAC, ainda que reduzida, pode influenciar decisivamente a regulação do peso corporal.

Estas evidências permitiram relançar o estudo dos agonistas β_3 e da efederina, no entanto, ainda nenhum estudo mostrou resultados relevantes. Os ácidos biliares surgem como importante alternativa para estimulação do TAC já que os resultados dos primeiros estudos são bastante animadores, embora, nada esteja ainda confirmado.

A nova perspectiva baseada na manipulação do tecido adiposo é uma estratégia bastante arrojada, necessitando ainda de um rigoroso processo de validação, uma vez que estratégias previas de modificação dos depósitos adiposos condicionaram importantes lipodistrofias (Gesta *et al*, 2007).

Embora a ideia de utilização TAC como estratégia de combate à obesidade seja uma abordagem racional, é importante ter em conta a possibilidade de surgirem mecanismos contra-regulatórios, como por exemplo o aumento do apetite. Além disso, é importante considerar que a energia é gasta à custa do aumento da temperatura o que pode condicionar níveis de transpiração socialmente inaceitáveis.

Apesar de estar muito por definir acerca deste tema, a perspectiva de utilização do TAC no combate à crescente epidemia da obesidade é uma estratégia racional e por isso deve continuar a merecer atenção por parte da comunidade científica.

6. Bibliografia

- Arch, J. (2008). The discovery of drugs for obesity, the metabolic effects of leptin and variable receptor pharmacology: perspectives from beta3-adrenoceptor agonists. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 378 (2), 225-40.
- Astrup, A., Bülow, J., Christensen, N., Madsen, J. (1984). Ephedrine-induced thermogenesis in man: no role for interscapular brown adipose tissue. *Clinical science*, 66 (2), 179-86.
- Astrup, A., Bülow, J., Madsen, J., Christensen, N. (1985). Contribution of BAT and skeletal muscle to thermogenesis induced by ephedrine in man. *The American journal of physiology*, 248 (5 Pt 1), E507-15.
- Atit, R., Sgaier, S., Mohamed, O., Taketo, M., Dufort, D., Joyner, A., et al. (2006). Beta-catenin activation is necessary and sufficient to specify the dorsal dermal fate in the mouse. *Developmental biology*, 296 (1), 164-76.
- Baba, S., Engles, J., Huso, D., Ishimori, T., Wahl, R. (2007). Comparison of uptake of multiple clinical radiotracers into brown adipose tissue under cold-stimulated and nonstimulated conditions, 48 (10), 1715-23.
- Barbatelli, G., Murano, I., Madsen, L., Hao, Q., Jimenez, M., Kristiansen, K., et al. (2010). The emergence of cold-induced brown adipocytes in mouse white fat depots is determined predominantly by white to brown adipocyte transdifferentiation. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*, 298 (6), E1244-53.
- Cannon, B., Nedergaard, J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological reviews*, 84 (1), 277-359.
- Celi, F. (2009). Brown adipose tissue-when it pays to be inefficient. *The New England journal of medicine*, 360 (15), 1553-6.
- Chang, J., Lee, H., Goo, J., Lee, H.-Y., Lee, J., Chung, J.-K., et al. (2006). False positive and false negative FDG-PET scans in various thoracic diseases. *Korean journal of radiology*, 7 (1), 57-69.
- Christian, M., Parker, M. (2010). The engineering of brown fat. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2 (1), 23-5.
- Cinti, S. (2005). The adipose organ. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 73 (1), 9-15.
- Cinti, S. (2006). The role of brown adipose tissue in human obesity. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases*, 16 (8), 569-74.
- Claessens-van Ooijen, A., Westerterp, K., Wouters, L., Schoffelen, P., van Steenhoven, A., van Marken Lichtenbelt, W. (2006). Heat production and body temperature during cooling and rewarming in overweight and lean men. *Obesity (Silver Spring, Md)*, 14 (11), 1914-20.

- Cypess, A., Kahn, C. (2010). Brown fat as a therapy for obesity and diabetes. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*, 17 (2), 143-9.
- Cypess, A., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A., et al. (2009). Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *The New England journal of medicine*, 360 (15), 1509-17.
- Diepvens, K., Westerterp, K., Westerterp-Plantenga, M. (2007). Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*, 292 (1), R77-85.
- Döbert, N., Menzel, C., Hamscho, N., Wördehoff, W., Kranert, W., Grünwald, F. (2004). Atypical thoracic and supraclavicular FDG-uptake in patients with Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *The quarterly journal of nuclear medicine and molecular*, 48 (1), 33-8.
- Enerbäck, S. (2009). The origins of brown adipose tissue. *The New England journal of medicine*, 360 (19), 2021-3.
- English, J., Patel, S., Flanagan, M. (1973). Association of pheochromocytomas with brown fat tumors. *Radiology*, 107 (2), 279-81.
- Feldmann, H., Golozoubova, V., Cannon, B., Nedergaard, J. (2009). UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. *Cell Metabolism*, 9 (2), 203-9.
- Frühbeck, G., Becerril, S., Sáinz, N., Garrastachu, P., García-Velloso, M. (2009a). BAT: a new target for human obesity? *Trends in pharmacological sciences*, 30 (8), 387-96.
- Frühbeck, G., Sesma, P., Burrell, M. (2009b). PRDM16: the interconvertible adipo-myocyte switch. *Trends in cell biology*, 19 (4), 141-6.
- Fukuchi, K., Tatsumi, M., Ishida, Y., Oku, N., Hatazawa, J., Wahl, R. (2004). Radionuclide imaging metabolic activity of brown adipose tissue in a patient with pheochromocytoma. *Experimental and clinical endocrinology diabetes*, 112 (10), 601-3.
- Gesta, S., Tseng, Y.-H., Kahn, C. (2007). Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*, 131 (2), 242-56.
- Ghorbani, M., Himms-Hagen, J. (1997). Appearance of brown adipocytes in white adipose tissue during CL 316,243-induced reversal of obesity and diabetes in Zucker fa/fa rats. *International journal of obesity and related metabolic*, 21 (6), 465-75.
- Ghorbani, M., Claus, T., Himms-Hagen, J. (1997). Hypertrophy of brown adipocytes in brown and white adipose tissues and reversal of diet-induced obesity in rats treated with a beta3-adrenoceptor agonist. *Biochemical pharmacology*, 54 (1), 121-31.

Gonzalez-Barroso, M., Ricquier, D., Cassard-Doulcier, A. (2000). The human uncoupling protein-1 gene (UCP1): present status and perspectives in obesity research. *Obesity reviews*, 1 (2), 61-72.

Griffeth, L. (2005). Use of PET/CT scanning in cancer patients: technical and practical considerations. *Proceedings (Baylor University Medical Center)*, 18 (4), 321-30.

Hainer, V., Toplak, H., Mitrakou, A. (2008). Treatment modalities of obesity: what fits whom? *Diabetes care*, 31 Suppl 2, S269-77.

Haslam, D., James, W. (2005). Obesity. *Lancet*, 366 (9492), 1197-209.

Hill, J., Wyatt, H., Reed, G., Peters, J. (2003). Obesity and the environment: where do we go from here? *Science*, 299 (5608), 853-5.

Hondares, E., Mora, O., Yubero, P., Rodriguez de la Concepción, M., Iglesias, R., Giralt, M., Villarroya, M. (2006) Thiazolidinediones and rexinoids induce peroxisome proliferator-activated receptor-coactivator (PGC)-1alpha gene transcription: an autoregulatory loop controls PGC-1alpha expression in adipocytes via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivation. *Endocrinology*, 147 (6), 2829-38

Huttunen, P., Hirvonen, J., Kinnula, V. (1981). The occurrence of brown adipose tissue in outdoor workers. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 46 (4), 339-45.

Jansen, P. (2010). A new life for bile acids. *Journal of hepatology*, 52 (6), 937-8.

Kajimura, S., Seale, P., Kubota, K., Lunsford, E., Frangioni, J., Gygi, S., et al. (2009). Initiation of myoblast to brown fat switch by a PRDM16-C/EBP-beta transcriptional complex. *Nature*, 460 (7259), 1154-8.

Kozak, L. (2010). Brown fat and the myth of diet-induced thermogenesis. *Cell Metabolism*, 11 (4), 263-7.

Langin, D. (2010). Recruitment of brown fat and conversion of white into brown adipocytes: strategies to fight the metabolic complications of obesity? *Biochimica et biophysica acta*, 1801 (3), 372-6.

Lichtenbelt, W., Vanhommerig, J., Smulders, N., Drossaerts, J., Kemerink, G., Bouvy, N., et al. (2009). Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *The New England journal of medicine*, 360 (15), 1500-8.

Lin, D., Jacobs, M., Percy, T., Dowdy, Y., Mantil, J. (2005). High 2-deoxy-2[F-18]fluoro-D-glucose uptake on positron emission tomography in hibernoma originally thought to be myxoid liposarcoma. *Molecular imaging and biology*, 7 (3), 201-2.

Lowell, B., S-Susulic, V., Hamann, A., Lawitts, J., Himms-Hagen, J., Boyer, B., et al. (1993). Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature*, 366 (6457), 740-2.

Mohamed-Ali, V., Pinkney, J., Coppack, S. (1998). Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *International journal of obesity and related metabolic*, 22 (12), 1145-58.

Nedergaard, J., Bengtsson, T., Cannon, B. (2007). Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism* , 293 (2), E444-52.

Nelson, D., Cox, M. (2000). *Lehninger principles of biochemistry*. 3ª Ed. Worth Publishers. New York

Organização Mundial de Saúde (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a World Health Organization consultation. *World Health Organization technical report series* , 894, i-xii, 1-253.

Organização Mundial de Saúde (2005). Obesity and overweight. *Fact sheet no. 311*

Park, K., Halperin, D., Tontonoz, P. (2008). Before They Were Fat: Adipocyte Progenitors. *Cell Metabolism* , 8 (6), 454-457.

Powell, E., Kuhn, P., Xu, W. (2007). Nuclear Receptor Cofactors in PPAR γ -Mediated Adipogenesis and Adipocyte Energy Metabolism. *PPAR Research* , 2007, 1-12.

Ravussin, E., Kozak, L. (2009). Have we entered the brown adipose tissue renaissance? *Obesity reviews*, 10 (3), 265-8.

Ravussin, E., Lillioja, S., Knowler, W., Christin, L., Freymond, D., Abbott, W., et al. (1988). Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain. *The New England journal of medicine* , 318 (8), 467-72.

Rothwell, N., Stock, M. (1979). Combined effects of cafeteria and tube-feeding on energy balance in the rat. *The Proceedings of the Nutrition Society* , 38 (1), 5A.

Rothwell, N., Stock, M. (1983). Luxuskonsumption, diet-induced thermogenesis and brown fat: the case in favour. *Clinical science*, 64 (1), 19-23.

Rousseau, C., Bourbouloux, E., Campion, L., Fleury, N., Bridji, B., Chatal, J., et al. (2006). Brown fat in breast cancer patients: analysis of serial (18)F-FDG PET/CT scans. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 33 (7), 785-91.

Saito, M., Okamatsu-Ogura, Y., Matsushita, M., Watanabe, K., Yoneshiro, T., Nio-Kobayashi, J., et al. (2009). High Incidence of Metabolically Active Brown Adipose Tissue in Healthy Adult Humans: Effects of Cold Exposure and Adiposity. *Diabetes*, 58 (7), 1526-1531.

Seale, P., Bjork, B., Yang, W., Kajimura, S., Chin, S., Kuang, S., et al. (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*, 454 (7207), 961-7.

Seale, P., Kajimura, S., Spiegelman, B. (2009). Transcriptional control of brown adipocyte development and physiological function--of mice and men. *Genes & development*, 23 (7), 788-97.

Seale, P., Lazar, M. (2009). Brown fat in humans: turning up the heat on obesity. *Diabetes*, 58 (7), 1482-4.

Timmons, J., Wennmalm, K., Larsson, O., Walden, T., Lassmann, T., Petrovic, N., et al. (2007). Myogenic gene expression signature establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 (11), 4401-6.

Tseng, Y.-H., Kokkotou, E., Schulz, T., Huang, T., Winnay, J., Taniguchi, C., et al. (2008). New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature*, 454 (7207), 1000-4.

Ursino, M., Vasina, V., Raschi, E., Crema, F., De Ponti, F. (2009). The beta3-adrenoceptor as a therapeutic target: current perspectives. *Pharmacological research*, 59 (4), 221-34.

van Baak, M., Hul, G., Toubro, S., Astrup, A., Gottesdiener, K., DeSmet, M., et al. (2002). Acute effect of L-796568, a novel beta 3-adrenergic receptor agonist, on energy expenditure in obese men. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 71 (4), 272-9.

Virtanen, K., Lidell, M., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., Niemi, T., et al. (2009). Functional brown adipose tissue in healthy adults. *The New England journal of medicine*, 360 (15), 1518-25.

Wijers, S., Saris, S., Lichtenbelt, D. (2009). Recent advances in adaptive thermogenesis: potential implications for the treatment of obesity. *Obesity reviews*, 10 (2), 218-26

Xue, B., Rim, J.-S., Hogan, J., Coulter, A., Koza, R., Kozak, L. (2007). Genetic variability affects the development of brown adipocytes in white fat but not in interscapular brown fat. *Journal of lipid research*, 48 (1), 41-51.

Yang, X., Enerbäck, S., Smith, U. (2003). Reduced expression of FOXC2 and brown adipogenic genes in human subjects with insulin resistance. *Obesity research*, 11 (10), 1182-91.

7. Agradecimentos

Agradeço ao Dr. Jorge Dores por ter aceite a orientação científica deste trabalho e pela disponibilidade e simpatia com que sempre solucionou as minhas dúvidas.