

MARIANA DE FRANÇA OLIVEIRA DA SILVA

**EFEITOS DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS SOBRE A REGULAÇÃO DA
EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS COM A LIPÓLISE NO TECIDO
ADIPOSO BRANCO SUBCUTÂNEO E VISCERAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Maria Tereza Nunes

Versão corrigida: A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2015

RESUMO

OLIVEIRA DA SILVA, M. F. **Efeitos dos hormônios tireoidianos sobre a regulação da expressão de proteínas envolvidas com a lipólise no tecido adiposo branco subcutâneo e visceral.** 2015. 63 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Os hormônios tireoidianos (HT) exercem um papel lipolítico importante no Tecido Adiposo Branco (TAB), por meio da indução da expressão de receptores beta adrenérgicos na membrana do adipócito, o que aumenta a sensibilidade deste tecido às catecolaminas. Sabe-se que os principais efetores da ação lipolítica nesse tecido são a lipase hormônio sensível (LHS) e a lipase dos triglicerídeos dos adipócitos (ATGL), as quais hidrolisam os triglicerídeos em ácidos graxos e glicerol. Além disso, outros componentes estão envolvidos na atividade lipolítica, como as perilipinas, proteínas estas que envolvem a gota de gordura, formando uma barreira contra a ação da LHS e ATGL, de modo que precisam ser fosforiladas para que a LHS e, indiretamente, a ATGL possam exercer seu efeito lipolítico. Nesse estudo, nós investigamos em ratos se os HT poderiam interferir na expressão gênica e conteúdo proteico da LHS, ATGL, perilipina A e dos receptores beta3 adrenérgicos no tecido adiposo branco subcutâneo e visceral (depósitos omental e mesentérico). Para isso, avaliamos o efeito da tireoidectomia e do tratamento com T3 sobre a expressão das proteínas descritas e observamos que na ausência de HT há uma redução na expressão gênica e proteica da LHS no depósito mesentérico. No entanto, o tratamento com T3 reduziu o conteúdo do transcrito e aumentou o conteúdo proteico da LHS tanto no depósito mesentérico quanto no subcutâneo. Quanto à ATGL, verificamos uma redução da expressão gênica da enzima no depósito mesentérico dos animais tireoidectomizados e um aumento do conteúdo proteico da mesma frente ao tratamento com T3 nos depósitos subcutâneo e mesentérico. Embora tenhamos observado alterações na expressão gênica de perilipina e receptores beta3 adrenérgicos, nenhuma alteração no conteúdo proteico foi detectada. Nossos resultados apontaram que o T3 aumenta o conteúdo proteico da LHS e ATGL no tecido adiposo branco, provavelmente por uma ação pós-transcricional, mostrando que os HT atuam sobre a lipólise através de outros mecanismos além da via beta adrenérgica.

Palavras-chave: LHS. ATGL. Perilipina A. Receptores beta 3 adrenérgicos.

ABSTRACT

OLIVEIRA DA SILVA, M. F. **Effects of thyroid hormones on the regulation of the expression of proteins involved on lipolysis in subcutaneous and visceral white adipose tissue.** 2015. 63 p. Masters thesis (Human Physiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Thyroid hormones (TH) play an important lipolytic role on white adipose tissue (WAT), by means of the induction of beta-adrenergic receptors expression on adipocytes' membrane, mechanism by which they increase the sensitivity of WAT to catecholamines. The main effectors of the lipolytic action on WAT are the hormone sensitive lipase (HSL) and adipose triglyceride lipase (ATGL), which hydrolyze triglycerides into fatty acids and glycerol. Other components are also involved in the lipolytic activity, such as perilipins. These proteins involve the fat droplet, forming a protective barrier against HSL and ATGL action. In this study, we investigated in hypothyroid and T3-treated rats the ability of TH to regulate HSL, ATGL, perilipin A and beta-3 adrenergic receptor mRNA and protein expression on subcutaneous and visceral (mesenteric and omental) fat depot. Our data demonstrated that HSL mRNA and protein are decreased by hypothyroidism on mesenteric WAT. However, T3-treated rats exhibited a reduction of HSL's transcript and an increase at the HSL's protein content in subcutaneous and mesenteric depot. ATGL mRNA is reduced in hypothyroid rats' mesenteric depot and T3 treatment increased ATGL protein content on subcutaneous and mesenteric depot. Although alterations on perilipin and beta-3 adrenergic receptor were observed, the protein content remained unaffected. Our findings suggest that T3 positively regulates HSL and ATGL protein content on WAT most likely by post-transcriptional mechanisms. These results show that TH regulate lipolysis by other mechanisms besides beta adrenergic regulation.

Keywords: ATGL. HSL. Perilipin A. Lipolysis. Beta adrenergic receptors.

1 INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoidianos (HT) exercem a maior parte dos seus efeitos biológicos por meio da interação com os seus receptores nucleares (TR), que estão associados a regiões do DNA do gene-alvo, denominadas elementos responsivos aos hormônios tireoidianos (FONDELL et al., 1999; JEPSEN et al., 2002). Por meio dessas ações, designadas genômicas, os HT regulam a expressão de proteínas específicas envolvidas no crescimento, desenvolvimento e metabolismo. Mais recentemente, ações não genômicas dos HT vem sendo descritas, as quais independem de sua reconhecida ação a nível nuclear regulando a expressão de genes (BARGI-SOUZA et al., 2015; DAVIS & DAVIS, 1996).

Sob a ação do hormônio tireotrófico (TSH) hipofisário, a glândula tireóide sintetiza e secreta T4 (3,5,3',5'-tetraiodo-L-tironina ou tiroxina) e T3 (3,3',5-triiodo-L-tironina) na circulação. A forma predominante de HT liberada no plasma é o T4, no entanto o T3 é considerado o principal HT biologicamente ativo, sob o ponto de vista nuclear. Assim, grande parte do T3 plasmático é produto da monodesiodação periférica do T4, reação catalisada pelas desidases tipo I e II, que removem um iodo da posição 5 do anel externo (5') do T4 (CHOPRA, 1976). Ao entrar na célula-alvo, o T3, proveniente do plasma ou da monodesiodação intracelular do T4, liga-se ao receptor de HT e promove a ativação ou a inibição da transcrição de genes específicos (KIMURA, 2012).

Os HT exercem um importante papel no metabolismo lipídico. Sabe-se que eles aumentam a expressão, bem como a atividade de algumas enzimas envolvidas na lipogênese, como a acetil-CoA carboxilase, ácido graxo sintase, enzima málica e glicose-6-fosfato desidrogenase (CHEN et al., 2015). Além disso, o T3 acelera a diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos no tecido adiposo (DARIMONT et al., 1993). Sabe-se também que este hormônio tem um papel importante na lipólise, pois aumenta a expressão e, portanto, o conteúdo de receptores beta adrenérgicos no tecido adiposo, o que aumenta a sensibilidade do mesmo às catecolaminas, as quais são reconhecidos agentes lipolíticos (HELLSTRÖM et al., 1997; VIGUERIE et al., 2002).

Três subtipos de adrenoreceptores beta coexistem na membrana do adipócito, beta1, beta2 e beta3, no entanto, a quantidade relativa de cada subtipo difere de acordo com a espécie e depósitos de gordura (FÉVE et al., 1991; MUZZIN et al., 1992). O receptor beta3 adrenérgico foi descoberto a partir de observações de que antagonistas beta 1 e beta 2 adrenérgicos falharam em inibir a lipólise em adipócitos de ratos. Adicionalmente, os adipócitos de roedores são mais

responsivos a agonistas beta adrenérgicos com pouca ação sobre os subtipos beta1 e beta2 (GERMACK et al., 1997; LOWELL; FLIER, 1995). Em ratos, a lipólise é mediada pelos adrenoreceptores beta1 e beta3, sendo o receptor beta3 o subtipo mais abundante, estando presente tanto no tecido adiposo branco (TAB) subcutâneo e visceral, quanto no tecido adiposo marrom (TAM) e trato gastrointestinal destes animais (EVANS et al., 1996; GERMACK et al., 1997, 2000; GRANNEMAN; LAHNERS, 1992; MUZZIN et al., 1991).

Os receptores beta adrenérgicos pertencem a uma superfamília de proteínas integrais de membrana cujos efeitos são mediados por proteínas reguladoras de nucleotídeos de guanina (proteínas G). Ao interagirem com esses receptores, as catecolaminas são capazes de promover a ativação da adenilil ciclase, via proteína G estimulatória, levando à produção do segundo mensageiro AMP cíclico que, por sua vez, promove a ativação da proteína quinase A (PKA). Esta fosforila diferentes substratos relacionados à lipólise, processo catabólico que é complexo e depende da atividade de três enzimas: a lipase dos triglicerídeos do adipócito (ATGL), a lipase hormônio sensível (LHS) e a monoglicerídeo lipase (MGL) (GIROUSSE et al., 2012; KRAEMER; SHEN, 2002; SCHWEIGER et al., 2006). Estas hidrolisam os triglicerídeos (TGs) estocados no tecido adiposo, com subsequente liberação de ácidos graxos (AG) e glicerol (NAHMIAS et al., 1991; TAVERNIER et al., 2005). Em resumo, a PKA catalisa a fosforilação em serina da LHS e das perilipinas, proteínas que se encontram associadas à gota de gordura formando uma barreira que impede a ação da LHS (BLANCHETTE-MACKIE et al., 1995; LAFONTAN et al., 2009). Uma vez fosforiladas, as perilipinas sofrem alterações conformacionais expondo os TGs à ação hidrolítica da LHS, cuja atividade catalítica também é ativada por fosforilação pela PKA (DUNCAN et al., 2007; FAIN; GARCIA-SAINZ, 1983) (Fig. 1).

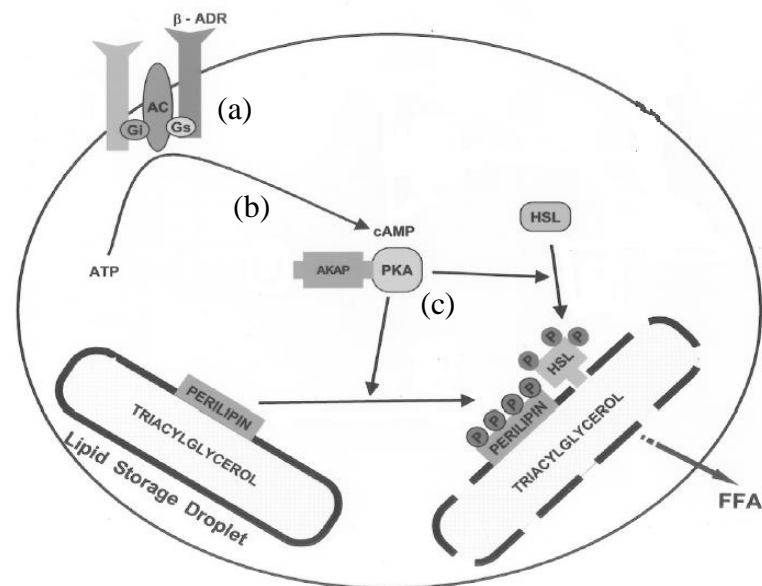


Figura 1 - Representação esquemática da ação lipolítica da LHS sobre a gota de gordura. (a) Mediadores da lipólise (ex. catecolaminas) se ligam a receptores acoplados à proteína G estimulatória ativando a adenilil ciclase (AC). (b) A AC aumenta o conteúdo intracelular de AMPc que, por sua vez, ativa a proteína quinase A (PKA). (c) A PKA fosforila a LHS, aumentando sua atividade catalítica, e a perilipina, que sofre uma mudança conformacional permitindo o acesso da LHS à gota lipídica (Adaptado de Londos, 2000).

A LHS apresenta uma ampla gama de substratos, atuando sobre todos os acilgliceróis: triacilglicerol (TAG), diacilglicerol (DAG) e monoacilglicerol (MAG), além de ésteres de colesterol, ésteres de ácidos graxos, ésteres de retinil e ésteres de paranitrofenil. A atividade desta enzima era considerada passo limitante para a hidrólise do TAG. No entanto, a demonstração de que camundongos *knockout* para LHS exibiam peso corpóreo normal e mantinham a capacidade de catabolizar as gorduras armazenadas sugeriu a presença de uma outra TAG hidrolase no tecido adiposo. Além disso, os animais *knockout* para LHS apresentaram um acúmulo de DAG em vários tecidos, mostrando um papel específico desta enzima no catabolismo do DAG (HAEMMERLE et al., 2001; HOLM et al., 2000; KRAEMER et al., 2002).

A ATGL, enzima identificada e caracterizada em 2004, tem como substrato o TAG, e remove especificamente o primeiro ácido graxo desta molécula, gerando o DAG, principal substrato fisiológico da LHS (SCHWEIGER et al., 2006). A ATGL, portanto, parece executar o passo inicial da hidrólise do TAG, favorecendo o catabolismo das gorduras armazenadas (SCHOENBOR et al., 2006). A ação da ATGL e da LHS sobre os substratos nos leva a entender que elas agem de forma coordenada na mobilização de AG (RACLOT et al., 2001; ZIMMERMANN et al., 2004; WANG et al., 2001).

Atualmente são reconhecidas 4 isoformas de perilipina: 2 delas, a perilipina A e B, são expressas nos adipócitos, a C é expressa em tecidos esteroideogênicos e a D é predita de transcrito do qual ainda não se detectou a proteína gerada. As múltiplas isoformas da perilipina são resultado do *splicing* alternativo de um único gene. A perilipina A é a isoforma mais abundante associada

com a gota de gordura nos adipócitos e controla tanto a lipólise basal quanto a estimulada (CHAVES et al., 2011; LONDOS et al., 1999; TANSEY et al., 2001).

A perilipina A apresenta seis sítios de fosforilação para a PKA (resíduos de serina), três na extremidade N-terminal (Sítios 1, 2 e 3 = Serinas 81, 223, 277) relacionados à lipólise mediada pela LHS, e três na extremidade C-terminal (Sítios 4, 5 e 6 = Serinas 433, 492 e 517) relacionados à ação da ATGL. A ATGL é também denominada *patatin-like phospholipase domain containing protein 2* (PNPLA2), desnutrina ou fosfolipase cálcio independente, e é membro de uma superfamília de lipases com domínio *patatin*, pois possui uma sequência N-terminal característica da *patatin*, uma proteína da batata com atividade acil hidrolase, acil transferase e esterase (KERSHAW et al., 2006; SMIRNOVA et al., 2006). O domínio *patatin* é essencial para a atividade hidrolase da ATGL, que é regulada pelo *Comparative Gene Identification-58* (CGI-58), também conhecido como *α/β hydrolase domain-containing protein-5* (ABHD5).

O CGI-58 atua como um co-fator, aumentando a atividade da ATGL cerca de 20 vezes na vigência da lipólise estimulada (GRUBER et al., 2010; LORD et al., 2012). Este co-fator se encontra associado à perilipina (extremidade C-terminal) e esta interação é regulada por estimulação hormonal. Assim, embora a atividade da ATGL não seja diretamente regulada pela PKA, a fosforilação da perilipina libera o CGI-58 permitindo a interação deste com a ATGL, favorecendo a ativação desta enzima. O *G₀/G₁ Switch Gene 2* (GOS2) é um regulador negativo da ATGL, que se liga ao domínio *patatin* da enzima inibindo sua atividade TAG hidrolase mesmo na presença do CGI-58. Esta proteína foi primeiramente identificada em células mononucleares sanguíneas, devido à associação da sua expressão com a passagem das células da fase G₀ para a fase G₁ do ciclo celular, no entanto, o papel do GOS2 no ciclo celular ainda não foi estabelecido (SCHWEIGER et al., 2012; YANG et al., 2010) (Fig. 2).

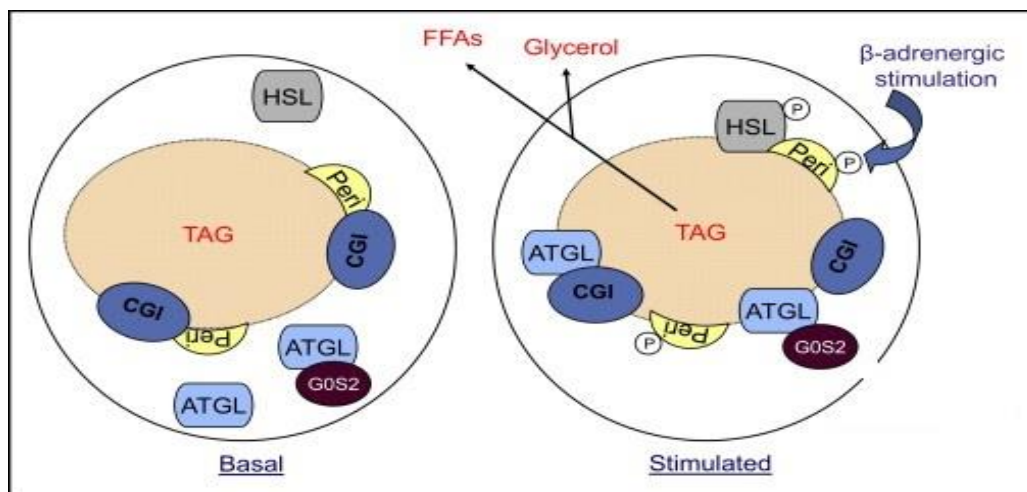


Figura 2 - Representação esquemática do controle da ação da ATGL sobre a gota lipídica. A fosforilação e consequente mudança conformacional da perilipina favorece a interação do CGI-58 com a ATGL, aumentando a atividade catalítica da enzima (Adaptada do site <http://www.cell.com>).

O acúmulo exagerado de lipídios é acompanhado por diversas desordens metabólicas, no entanto, a distribuição dessa gordura é mais importante do que sua quantidade total. O tecido adiposo branco (TAB) se distribui em diversos depósitos no organismo, os quais são anatomicamente classificados como tecido adiposo subcutâneo (TAS) e tecido adiposo visceral (TAV). O TAS é representado pelos depósitos abaixo da pele e o TAV constitui o tecido depositado próximo ou mesmo no interior das vísceras abdominais. A funcionalidade, metabolismo e estrutura celular do TAB variam de região para região (FONSECA-ALANIZ et al., 2006; PORTILLO et al., 2000).

A maioria dos estudos envolvendo roedores utiliza o TAV perigonadal como principal depósito para determinar a função biológica do TAB, pela fácil acessibilidade e ponto de referência anatômica. No entanto, o TAV perigonadal é drenado sistemicamente via veia cava inferior, enquanto outros depósitos viscerais como o TAB mesentérico e omental são drenados via veia porta hepática. Consequentemente, todo aporte de AG provenientes da hidrólise dos TGs nesses dois últimos depósitos alcança primariamente o fígado (RYTKA et al., 2011).

O fluxo exagerado de AG via veia porta para o fígado, que ocorre em indivíduos com alta adiposidade visceral, resulta em uma resistência hepática à insulina. O aumento de AG no interior do hepatócito favorece o acúmulo de um intermediário de três átomos de carbono, que participa da biossíntese dos AG, o Malonil CoA. O Malonil CoA inibe alostericamente as enzimas da via glicolítica, favorecendo um acúmulo de glicose no interior do hepatócito, tornando o gradiente de concentração desfavorável à entrada da mesma via Glut 2 (ciclo de Randle) (LENINGHER, 2007). Adicionalmente, a secreção de citocinas inflamatórias [Interleucina 6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), *Macrophage Chemoattractant Protein-1* (MCP-1) e Resistina] pelo TAV

visceral também favorece a manifestação de resistência à insulina e a concentração dessas citocinas é maior na veia porta que nas artérias sistêmicas (FONTANA et al., 2007; HANAUER, S., 2005).

O TAB mesentérico corresponde à gordura acumulada no mesentério, membrana intra-abdominal formada pelo peritônio que sustenta o intestino delgado, enquanto o TAB omental é representado pela gordura acumulada no omento ou epiplon, que são duas membranas peritoneais unidas que revestem principalmente o estômago e duodeno proximal (Figura 3, 4 e 5).

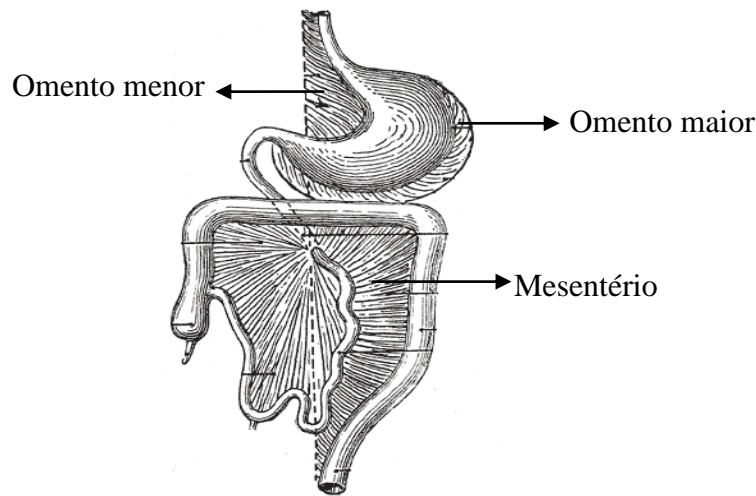


Figura 3 - Representação esquemática do mesentério e omento (epiplon) (Adaptado do site <http://www.pt.wikipedia.org/Omento>).

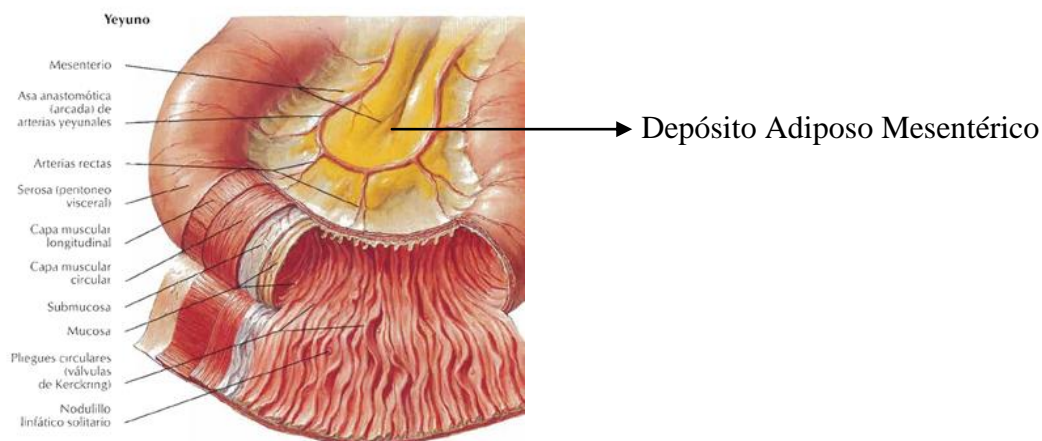


Figura 4 - Representação esquemática do TAB mesentérico (Adaptado do site <http://www.digestivouq.blogspot.com>).

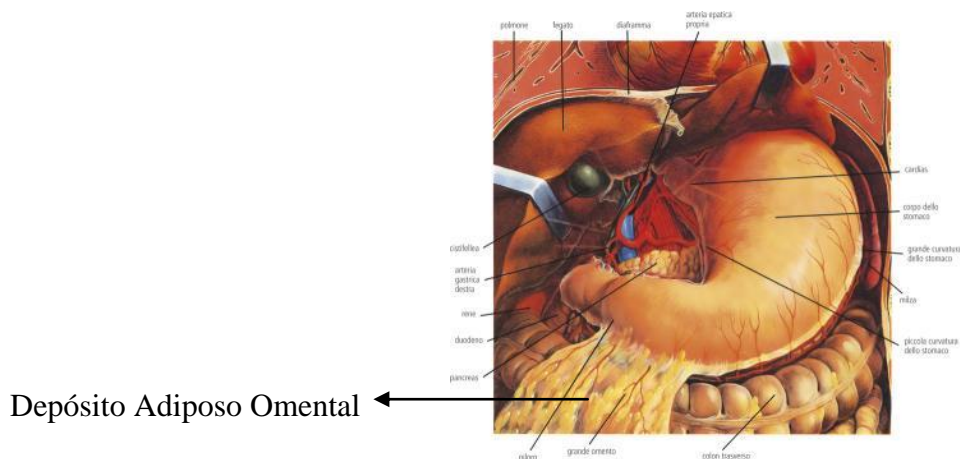


Figura 5 - Representação esquemática do TAB omental (epiplon) (Adaptado do site <http://www.lookfordiagnosis.com>).

O compartimento clássico associado ao estoque do excesso de gordura é o subcutâneo, que também tem um papel importante como isolante térmico na vigência de baixas temperaturas. Apesar de a elevada adiposidade visceral estar fortemente associada a várias desordens metabólicas (resistência à insulina, aterosclerose, hipertensão e dislipidemia), essa associação parece ser muito menos consistente em relação à gordura subcutânea. No entanto, em média 20% dos ácidos graxos que alcançam a veia porta e 14% do total de ácidos graxos que chegam à circulação sistêmica são derivados da gordura visceral, indicando que a maior parte dos ácidos graxos circulantes é proveniente do TAB subcutâneo (KLEIN, S., 2004; NIELSEN et al, 2004). Assim, por apresentar funções biológicas e atividades metabólicas distintas, os mecanismos de acúmulo e mobilização (lipólise) podem diferir de forma significativa entre os depósitos.

Devido à importância clínica dos diferentes depósitos de gordura, estudos relacionados ao controle da expressão depósito-específica de proteínas como LHS, ATGL, Perilipina A e Receptor beta3 adrenérgico (envolvidas com a lipólise) pelo T3 podem fornecer informações importantes sobre a capacidade deste hormônio de regular o conteúdo e distribuição da gordura corpórea, o que é de grande interesse devido à alta incidência de obesidade e desordens metabólicas relacionadas. Apesar de os HT apresentarem uma reconhecida ação lipolítica mediada pelas catecolaminas, via receptores beta adrenérgicos, a mobilização de gordura é um processo coordenado por vários processos enzimáticos, o que torna relevante a busca de informações relacionadas a uma ação mais direta desses hormônios sobre os mesmos.

8 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, concluímos que os hormônios tireoidianos medeiam à lipólise de uma forma mais direta, aumentando a expressão proteica da LHS e ATGL no TAB subcutâneo e mesentérico de ratos, dado que é inédito e que coloca as duas principais enzimas envolvidas no processo lipolítico no rol das proteínas reguladas pelo T3. Além disso, mostramos nesse estudo que o T3 regula diferentemente a lipólise de acordo com o depósito de gordura em questão. Não se deve descartar a possibilidade dos HTs atuarem regulando a atividade destas enzimas, estudo que não é o foco do presente trabalho.

REFERÊNCIAS*

ARNER, P.; HELLSTROM, L.; WAHRENBERG, H.; BRONNEGARD, M. Beta-adrenoceptor expression in human fat cells from different regions. *J. Clin. Invest.*, v. 86, n. 5, p. 1595-1600, 1990.

ARVIDSSON, E.; BLOMVIST, E.; RYDÉN, M. Depot-specific differences in perilipin mRNA but not protein expression in obesity. *J. Intern. Med.*, v. 255, n. 5, p. 595-601, 2004.

BARGI-SOUZA, P.; GOULART-SILVA, F.; RENDON L. M.; FIODERLISIO, T., NUNES, M. T. Triiodothyronine inhibits TSH secretion through a non-genomic mechanism. Presented at Society for Endocrinology BES 2015 Dublin, IE. *Endocrine Abstracts* 37 ep 709.

BLANCHETTE-MACKIE, E. J.; DMYER, N. K.; BARBER, T.; COXEY, R. A.; TAKEDA, T.; RONDONINE, C. M.; THEODORAKIAS, J. L.; GRENNBERG A. S.; LONDOS, C. Perilipin is located on the surface layer of intracellular lipid droplets in adipocytes. *J. Lipid. Res.*, v. 36, p. 1211–1226, 1995.

BINNERTS, A., et al. The effect of growth hormone administration in growth hormone deficient adult on bone, protein, carbohydrate and lipid homeostasis, as well as on body composition. *Clinical Endocrinology*, v. 37, p. 79-87, 2008.

BRASAEMLE, D. L. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and controls of lipolysis. *J. Lipid. Res.*, v. 48, p. 2547-2559, 2007.

BRUNETTO, E. L.; TEIXEIRA, S. S.; GIANNOCCO, G.; MACHADO, U. F.; NUNES, M. T. T3 rapidly increases SLC2A4 gene expression. An glut 4 trafficking to the plasma membrane in skeletal muscle of rat and improves glucose homeostasis. *Thyroid*, v. 22, n. 1, p. 70-79, 2012.

CATALAN, V., et al. Validation of endogenous control genes in human adipose tissue: Relevance to obesity and obesity-associated type 2 diabetes mellitus. *Horm. Metab. Res.*, v. 39, n. 7, p. 495-500, 2007.

CHAVES, V. E.; FRASSON, D.; KAWASHITA, N. H. Several agents and pathways regulate lipolysis in adipocytes. *Biochimie.*, v. 93, p. 1631-1640, 2011.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

CHOPRA, I. J. An assessment of daily production and significance of thyroidal secretion of 3, 3', 5'-triiodothyronine (reverse T3) in man. *J. Clin. Invest.*, v. 58, p. 32–40, 1976.

DAVIS, P. J.; DAVIS, F. B. Nongenomic actions of thyroid hormone. *Thyroid*, v. 6, n. 5, p. 467-504, 1996.

DENG, C., et al. Respective degre of expression of beta 1, beta 2 and beta 3 adrenoreceptors in human brown and white adipose tissues. *Br. J. Pharmacol.*, v. 118, n. 4, p. 929-934, 1996.

DORN, C., et al. Expression of fatty acid synthase in nonalcoholic fatty liver disease. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, v. 3, p. 505-514, 2010.

DUNCAN, R. E.; AHMADIAN, M.; JAWORSKI, K.; SARKADI-NAGY, E.; SUL, H. S. Regulation of Lipolysis in Adipocytes. *Annu. Rev. Nutr.*, v. 27, p. 79–101, 2007.

ELGADI, A.; ZEMACK, H.; MARCUS, C.; NORGREN, S. Tissue-specific *knockout* of TSHr in white adipose tissue increases adipocyte size and decreases TSH-induced lipolysis. *Biochem. Biophys. Res.*, v. 393, n. 3, p. 526-530, 2010.

ENDO, T.; KOBAYASHI, T. Expression of functional TSH receptor in white adipose tissue of hyt/hyt mice induces lipolysis in vivo. *Am J Physiol. Endocrinol. Metabol.*, v. 302, p. 569-575, 2012.

EVANS, B. A.; PAPAIOANNOU, M.; BONAZZI, V. R.; SUMMERS, R. J. Expression of beta 3 adrenoreceptor mRNA in rat tissues. *Br. J. Pharmacol.*, v. 117, n. 1, p. 210-216, 2006.

FAIN, J. N.; GARCIA-SAINZ, J. A. Adrenergic regulation of adipocyte metabolism. *J. Lipid. Res.*, v. 24, p. 945–966, 1983.

FEVE, B.; EMORINE, L. J.; LASNIER, F.; BLIN, N.; BAUDE, B.; NAHMIAS, C.; STROSBERG, A. D.; PAIRAULT, J. Atypical beta-adrenergic receptor in 3T3-F442A adipocytes: pharmacological and molecular relationship with the human b3-adrenergic receptor. *J. Biol. Chem.*, v. 266, p. 20329-20336, 1991.

FONDELL J. D.; GUERMAH M.; MALIK S.; ROEDER R. G. Thyroid hormone receptor associated proteins and general positive cofactors mediate thyroid hormone receptor function in the absence of the TATA box-binding protein-associated factors of TFIID. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, v. 96, n. 5, p. 1959-1964, 1999.

FONSECA- ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v. 50, n. 2, p. 216-222, 2006.

FONTANA, L.; EAGON, J. C.; TRUJILLO, M. E.; SCHERER, P. E.; KLEIN, S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes*, v. 56, n. 4, p. 1010- 1013, 2007.

GAGNON, A.; LANGILLE, M. L.; CHAKER, S.; ANTUNES, T. T.; DURAND, J.; SORISKY, A. TSH signaling pathway that regulate MCP-1 in human differentiated adipocytes. *Metabolism*, v. 63, p. 812-821, 2014.

GAGNON, A.; ANTUNES, T. T.; LY, T.; PONQSUWAN, P.; GAVIN, C.; LOCHNAN, H. A.; SORISKY, A. Thyroid-stimulating hormone stimulates lipolysis in adipocytes in culture and raises serum free fatty acid levels in vivo. *Metabolism*, v. 50, n. 4, p. 547-553, 2010.

GERMACK, R.; STARZEC, A. B.; VASSY, R.; PERRET, G. Y. Beta-adrenoceptor subtype expression and function in rat white adipocytes. *Br. J. Pharmacol.*, v. 120, p. 201-210, 1997.

GERMACK, R.; STARZEC, A. B.; PERRET, G. Y. Regulation of beta 1- and beta 3-adrenergic agonist-stimulated lipolytic response in hyperthyroid and hypothyroid rat white adipocytes. *Br. J. Pharmacol.*, v. 129, n. 3, p. 448-456, 2000.

GIORGINO, F.; LAVIOLA, L.; ERIKSSON, J. W. Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from in vivo and in vitro studies. *Acta Physiol. Scand.*, v. 183, p. 13-30, 2005.

GIROUSSE, A.; LANGIN, D. Adipocyte lipases and lipid droplet associated proteins: insight from transgenic mouse models. *International Journal of Obesity*, v. 36, p. 581-594, 2012.

GRANNEMAN, J. G.; LAHNERS, K. N. Differential adrenergic regulation of beta1- and beta3-adrenoreceptor messenger ribonucleic acids in adipose tissues. *Endocrinology*, v. 130, p. 109- 114, 1992.

GRASSELLI, E.; VOCCI, A.; CANESI, L.; SALIS, A.; DAMONTE, G.; COMPALATI, A. D.; GOGLIA, F.; GALLO, G.; VERGANI, L. 3,5-diiodo-L-thyronine modifies the lipid droplet composition in a model of hepatosteatosis. *Cell Physiol. Biochem.*, v. 33, p. 344-356, 2014.

GRUBER, A., et al. The N-terminal region of comparative gene identification-58 (CGI-58) is important for lipid droplet binding and activation of adipose triglyceride lipase. *J. Biol. Chem.*, v. 285, p. 12289-12298, 2010.

HAEMMERLE, G., et al. Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science*, v. 312, p. 734, 2006.

HANNAUER, S. B. Obesity and visceral fat- A growing inflammatory disease. *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.*, v. 2, n. 6, p. 245, 2005.

HELLSTRÖM, L.; WAHRENBERG, H.; REYNISDOTTIR, S.; ARNER P. Catecholamine-Induced Adipocyte Lipolysis in Human Hyperthyroidism. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 82, p. 159–166, 1997.

HOLM, C.; OSTERLUND, T.; LAURELL, H.; CONTRERAS, J. A. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Annu. Rev. Nutr.*, v. 20, p. 365–393, 2000.

JASON, A.; RAWET, H.; PERBECK, L.; MARCUS, C. Presence of thyrotropin receptor in infant adipocytes. *Pediatr. Res.*, v. 43, p. 555-558, 1998.

JASON, A.; MARCUS, C. The lipolytic effects of thyrotropin and isoprenaline are not affected by growth hormone in infant adipocytes. *Horm. Metab. Res.*, v. 29, p. 164-167, 1997.

JENSEN, M. D. Lipolysis: contribution from regional fat. *Annu. Rev. Nutr.*, v. 17, p. 127-139, 1997.

JEPSEN K.; ROSENFELD M. G. Biological roles and mechanistic actions of corepressor complexes. *Journal of Cell Science*, v. 115, p. 689-698, 2002.

KERSHAW, E. E.; HAMM, J. K.; VERHAGEN, L. A. W.; PERONI, O.; KATIC, M.; FLIER, J. S. Adipose triglyceride lipase: function, regulation by insulin, and comparison with adiponutrin. *Diabetes*, v. 55, p. 148-157, 2006.

KIMURA, E. T. Glândula Tireoide. In: AIRES, M. M. *Fisiologia*. 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. cap. 68, p.1055-1077.

KLEIN, I.; DANZI, S. Thyroid disease and heart. *Circulation*, v.116, p. 1725-1735, 2007.

KLEIN, S. The case of visceral fat: Argument for the defense. *J. Clin. Invest.*, v. 113, n. 11, p. 1530-1532, 2004.

KRAEMER, F. B., SHEN, W. J. Hormone-sensitive lipase: control of intracellular tri-(di)acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis. *J. Lipid Res.*, v. 43, n. 10, p. 1585-1594, 2002.

LAFONTAN, M. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Prog. Lipid. Res.*, v. 48, p. 275-297, 2009.

LANDMARK, B. F.; OYEN, O.; SKALHEGG, B. S.; FAUSKE, B.; JAHNSEN, T.; HANSSON, V. Cellular location and age-dependent changes of the regulatory subunits of cAMP-dependent protein kinase in rat testis. *J. Reprod. Fertil.*, v. 99, n. 2, p. 323-334, 1993.

LEHNINGER, A. L. Biossíntese de lipídios. In: LEHNINGER, A. L. *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 2007. p. 600.

LE ROCHE, K. G., et al. Global analysis of transcript and protein levels across the *Plasmodium falciparum* life cycle. *Genome Res.*, v. 14, n. 11, p. 2308-2318, 2004.

LEWIS, W. T.; LEFROWITZ, R. T. Thyroid hormone regulation of beta adrenergic receptor number. *J. Biol. Chem.*, v. 252, n. 8, p. 2787-2789, 1977.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods*, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LONDOS, C.; BRASAEMLE, D. L.; SCHULTZ, C. J.; ADLER-WAILES, D. C.; LEVIN, D. M.; KIMMEL, A. R.; RONDINONE, C. M. On the Control of Lipolysis in Adipocytes. *Ann. N Y Acad. Sci.*, v. 18, p. 155-168, 1999.

LORD, C. C., et al. CGI-58/ABHD5-Derived signaling lipids regulate systemic inflammation and insulin action. *Diabetes*, v. 61, p. 355-363, 2012.

LOWELL, B. B.; FLIER, J. S. The potencial significance of beta 3 adrenergic receptors. *J. Clin. Invest.*, v. 95, n. 3, p. 923, 1995.

MARTIN, M. L.; JENSEN, M. D. Effects of body fat distribution on regional lipolysis in obesity. *J. Clin. Invest.*, v. 88, p. 609-613, 1991.

MARTINEZ-BOTAS, J. et al. Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in *Lepr (db/db)* mice. *Nature genetics*, v. 26, p. 474-479, 2000.

MIYOSHI, H.; PERFIELD II, J.; SOUZA, S. C.; SHEN, W. J.; ZHANG, H. H.; STANCHEVA, Z. S.; KRAEMER, F. B.; OBIN, M. S.; GREENBERG, A. S. Control of adipose triglycerides lipase action by serine 517 of perilipin A globally regulates protein kinase A-stimulated lipolysis in adipocytes. *J. Biol. Chem.*, v. 282, p. 996-1002, 2007.

MIYOSHI, H., et al. Perilipin promotes hormone-sensitive lipase mediated adipocyte lipolysis via phosphorylation dependent and independent mechanisms. *J. Biol. Chem.*, v. 281, p. 15837-15844, 2006.

MULLER, M. J.; SEITZ, H. J. Thyroid hormone action on intermediary metabolism. Part III. Protein metabolism in hyper- and hypothyroidism. *Klin Wochenschr.*, v. 62, p. 97-102, 1984.

MUZZIN, P.; REVELLI, J. P.; FRASER, C. M.; GIACOBINO, J. P. Radioligand binding studies of the atypical beta3-adrenergic receptor in rat brown adipose tissue using [3H]-CGP-12177. *FEBS Lett.*, v. 298, p. 162 – 164, 1992.

MUZZIN, P.; REVELLI, J. P.; KUHNE, F.; GOCAYNE, J. D.; MCCOMBIE, W. R.; VENTER, J. C.; GIACOBINO, J. P.; FRASER, C. M. An adipose tissue-specific, beta-adrenergic receptor. Molecular cloning and down-regulation in obesity. *J. Biol. Chem.*, v. 266, p. 24053-24058, 1991.

NAHMIAS, C.; BLIN, N.; ELALOUF, J. M.; MATTEI, M. G.; STROSBERG, A. D.; EMORINE, L. J. Molecular characterization of the mouse beta 3 adrenergic receptor: Relationship with the atypical receptor of adipocytes. *EMBO J.*, v. 10, n. 12, p. 3721-3727, 1991.

NIELSEN, T. S.; JENSEN, N.; JORGENSEN, O.; MOLLER, N.; LUNA, S. Disserting adipose tissue lipolysis: molecular regulation and implications for metabolic disease. *J. Mol. Endocrinol.*, v. 52, n. 3, p. 199-222, 2004.

NYGARD, M. Regulation of gene transcription by the thyroid hormone receptors. 2006. 37 f. PhD Thesis - Department of Biociences and Nutrition, Karolinska Institutet, Stockholm.

PALOU, M.; PRIEGO, T.; SÁNCHEZ, J.; RODRIGUEZ, A. M.; PALOU, A.; PICÓ, C. Gene expression patterns in visceral and subcutaneous adipose depots in rats are linked to their morphologic features. *Cell. Physiol. Biochem.*, v. 24, p. 547-556, 2009.

PFEIFLE, B.; PFEIPLE, R.; FAULHABER, J. D.; DITSCHUNEIT, H.; Thyroid hormone effects on beta-adrenergic receptors in isolated fat cells in rats. *Horm. Metab. Res.*, v. 13, n. 4, p. 218-221, 1981.

PORTILLO, M. P.; VILLARO, J. M.; TOBRES, M. I.; MACARULLA, M. T. In vivo lipolysis in adipose tissue from two anatomical locations measured by microdialysis. *Life Sci.*, v. 67, n. 4, p. 437-445, 2000.

RACLOT, T.; HOLM, C.; LANGIN, D. Fatty acid specificity of hormone-sensitive lipase: implication in the selective hydrolysis of triacylglycerols. *J. Lipid. Res.*, v. 42, p. 2049-2057, 2001.

RAY, H.; PINTEUR, C.; FRERING, V.; BEYLOT, M.; LARGE, V. Depot-specific differences in perilipin expression and hormone-sensitive lipase expression in lean and obese. *Lipids Health Dis.*, v. 8, n. 58, 2009.

REBUFFÉ-SCRIV, M.; CULLBERG, G.; LUNDBERG, P. A., et al. Anthropometric variables and metabolism in polycystic ovarian disease. *Horm. Metab. Res.*, v. 21, p. 391-397, 1989.

RIIS, A. L.; GRAVHOLT, C. H.; DJURHUUS, C. B.; NØRRELUND, H.; JØRGENSEN, J. O. L.; WEEKE, J.; MØLLER, N. Elevated Regional Lipolysis in Hyperthyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. v. 87, p. 4747-4753, 2002.

RUBIO, A.; RAASMAJA, A.; SILVA, J. E. Thyroid hormone and norepinephrine signaling in brown adipose tissue. II: Differential effects of thyroid hormone on beta 3 adrenergic receptors in brown and white adipose tissue. *Endocrinology*, v 136, n. 8, p. 3277-3284, 1995.

RYDÉN, M., et al. Comparative studies of the role of hormone-sensitive lipase and adipose triglyceride lipase in human fat cell lipolysis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, v. 292, p. 1847-1855, 2007.

RYTKA, J. M.; WUEEST, S.; SCHOENLE, E. J.; KONRAD, D. The portal theory supported by venous drainage-selective fat transplantation. *Diabetes*, v. 60, n. 1, p. 56-63, 2011.

SCHOENBOR, V.; HEID, I. M.; VOLLMERT, C.; LINGENHEL, A.; ADAMS, T. D.; HOPKINS, P. N.; ILLIG, T.; ZIMMERMANN, R.; ZECHNER, R.; HUNT, S. C.; KRONENBERG, F. The *ATGL* Gene Is Associated With Free Fatty Acids, Triglycerides, and Type 2 Diabetes. *Diabetes*, v. 55, p. 1270-1275, 2006.

SHWEIGER, M.; SCHREIBER, R.; HAEMMERLE, G.; LASS, A.; FLEDELIUS, C.; JACOBSEN, P.; TORNQVIST, H.; ZECHNER, R.; ZIMMERMANN, R. Adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase are the major enzymes in adipose tissue triacylglycerol catabolism. *J. Biol. Chem.*, v. 281, p. 40236-40241, 2006.

SCHWEIGER, M., et al. G0/G1 Switch gene-2 regulates human adipocyte lipolysis by affecting activity and localization of adipose triglyceride lipase. *J. Lipid. Res.*, v. 53, n. 11, p. 2307-2317, 2012.

SMIRNOVA, E.; GOLDBERG, E. B.; MAKAROVA, K. S.; LIN, L.; BROWN, W. J.; JACKSON, C. L. ATGL has a key role in lipid droplet/adiposome degradation in mammalian cells. *EMBO reports*, v. 7, p. 106-113, 2006.

SILVA, F. G.; GIANNOCCO, G.; LUCHESSI, A. D.; CURI, R.; NUNES, M. T. T3 acutely increases GH mRNA translation rate and GH secretion in hypothyroid. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v. 317, n. 1-2, p. 1-7, 2010.

SU, C. L.; SZTALRY, D. C.; CONTRERAS, J. A.; HOLM, C.; KIMMEL, A. R.; LONDOS, C. Mutational analysis of the hormone-sensitive lipase translocation reaction in adipocytes. *J. Biol. Chem.*, v. 278, n. 44, p. 43615-43619, 2003.

TANSEY, J., et al. Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhances leptin production and resistance to diet-induced obesity. *Proc Natl. Acad. Sc.*, v. 98, p. 6494-6499, 2001.

TAVERNIER, G.; JIMENEZ, M.; GIACOBINO, J. P.; HULO, N.; LAFONTAN, M.; MUZZIN, P.; LANGIN, D. Norepinephrine Induces Lipolysis in beta1/beta2/beta3-Adrenoceptor Knockout Mice. *Mol. Pharmacol.*, v. 68, p. 793-799, 2005.

VIGUERIE, N.; MILLET, L.; AVIZOU, S.; VIDAL, V.; LARROUY, D.; LANGIN, D. Regulation of human adipocytes gene expression by thyroid hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.*, v. 87, n. 2, p. 630-634, 2002.

WANG, S.; LAURIN, P. N.; HIMMS-HAGEN, J.; RUDNICKI, M. A.; LEVY, E.; ROBERT, M. F.; PAN, L.; OLIGNY, L.; MITCHELL, G. A. The adipose tissue phenotype of hormone-sensitive lipase deficiency in mice. *Obes. Res.*, v. 9, p. 119-128, 2001.

WANG, Y., et al. Perilipin expression in human adipose tissue: effects of severe obesity, gender and depot. *Obes. Res.*, v. 11, n. 8, p. 930-936, 2003.

YANG, X.; LU, X.; LOMBES, M.; RHA, G. B.; CHI, Y. I.; GUERIN, T. M.; SMART, E. J.; LIU, J. The G(0)/G(1) switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase. *Cell. Metabol.*, v. 11, n. 3, p. 194-205, 2010.

YANG, Z.; PRIVALSKY, M. L. Isoform-Specific Transcriptional Regulation by Thyroid Hormone Receptors: Hormone-Independent Activation Operates through a Steroid Receptor Mode of Coactivator Interaction. *Molecular Endocrinology.*, v. 15, n. 7, p.1170–1185, 2001.

ZHANG, H. H., et al. Lipase-selective functional domains of perilipin A differentially regulate constitutive and protein kinase A stimulated lipolysis. *J. Biol. Chem.*, v. 278 (51), p. 51535-51542, 2003.

ZIMMERMAN, R.; STRAUSS, J. G.; HAEMMERLE, G.; SCHOISWOHL, F.; BIRNERGRUENBERGER, R.; RIEDERER, M.; LASS, A.; NEUBERGER, G.; EISENHABER, F.; HERMETTER, A.; ZECHNER, R. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*, v. 306, p. 1383-1386, 2004.