Natalie Carolina de Castro

**O VOLUME CELULAR DO ADIPÓCITO CONTRIBUI PARA A
HETEROGENEIDADE FUNCIONAL DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO**

São Paulo

2009

Natalie Carolina de Castro

**O VOLUME CELULAR DO ADIPÓCITO CONTRIBUI PARA A
HETEROGENEIDADE FUNCIONAL DO TECIDO ADIPOSE BRANCO**

**Dissertação Apresentada ao Departamento de
Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Mestre em Ciências.**

Área de Concentração: Fisiologia Endócrina

Orientador: Prof. Dr. Fábio Bessa Lima

São Paulo

2009

RESUMO

CASTRO, N. C. **O Volume Celular do Adipócito Contribui para Heterogeneidade Funcional do Tecido Adiposo Branco**, 2009. [Tese de Mestrado (Fisiologia Humana, 2009. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O tecido adiposo já foi considerado um tecido metabolicamente pouco ativo, no entanto, os mais recentes avanços mostram que ele desempenha uma função importante no controle da homeostase energética. Baseado neste conceito, este trabalho objetivou caracterizar o perfil morfológico e metabólico de adipócitos isolados de três diferentes Coxins Adiposos, subcutâneo, peri-epididimal, retro-peritoneal (SC, PE e RP respectivamente). Os adipócitos dos diferentes Coxins foram coletados e submetidos a análise morfológica, aos ensaios metabólicos e análise da expressão de enzimas envolvidas no metabolismo lipídico e glicídico. Os resultados mostraram diferença estatisticamente significativa no volume dos adipócitos das três regiões entre si ($p < 0,05$), maior capacidade lipogênica dos adipócitos RP. Paralelamente, o tecido SC, mostrou maior expressão de enzimas envolvidas na via lipogênica ($p < 0,05$; SC vs PE e RP).

ABSTRACT

CASTRO, N. C. The Adipocyte Size Contributes to Heterogeneity of Functional White Adipose Tissue, 2009. [Master Degree's Dissertation (Human Physiology)]. Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2009

The adipose tissue was considered to be a little active metabolic tissue, however, the most recent advances show that it plays an important function in the control of the energy homostasis. Based on this concept, this work aimed to characterize the morphology and metabolism of isolated adipocytes of three different depots, like: subcutaneous, periepididymal, retroperitoneal (SC, PE and RP) . The adipocytes of the different depots had been collected and submitted to morphologic analysis, metabolic assays and to analysis of the enzymes expressions involved on lipids and glucose metabolism. The results showed statistical significant difference on volume of the adipocytes among the three different depots ($p < 0,05$), high lipogenic capacity of RP adipocytes and higher expression of proteins involved in lipogenic pathways of SC adipocytes ($p < 0,05$).

1 INTRODUÇÃO

O tecido adiposo (TA) possui múltiplos depósitos, ou seja, é difuso dentro do organismo e, por isso, não possui forma definida. Embora seja constituído por diversos espécimes celulares o seu elemento parenquimal mais importante é o adipócito. Seu citoplasma tem como característica fundamental a presença de um vacúolo lipídico único que ocupa a porção central da célula rebatendo todas as demais organelas para a periferia. O vacúolo gorduroso compreende aproximadamente 90% da massa celular. (Cinti, 2005)

Este tecido distribui-se difusamente por diversas regiões, como a região subcutânea, sob a extensão da pele ou regiões mais profundas, conectando-se a vísceras e músculos. (Bouchard, Després, Mauriêcge, 1993).

Através de mecanismos específicos, este tecido desenvolve uma importante função no controle do peso e da ingestão alimentar ao lado de outras importantes influências sobre o controle endócrino (Fonseca-Alaniz, Takada J, Alonso-Vale MIC, et al, 2006). A distribuição difusa da massa adiposa permite que o TA exerça controle metabólico mediante sinais endócrinos, parácrinos e autócrinos influenciando diversos territórios do organismo como cérebro, músculo, fígado, pâncreas, e outros, podendo esta influência depender da presença ou não de células adiposas em diferentes regiões (Bouchard, Després, Mauriêcge, 1993).

Do ponto de vista estritamente metabólico, as principais ações que o tecido adiposo executa são lipogênese e lipólise que, em médio e longo prazo, são controladas principalmente por vias neuroendócrinas, no entanto, em situações em que o organismo necessita de rápidas adaptações, essas ações (lipólise e lipogênese) são fortemente influenciadas por diferentes hormônios como a insulina e catecolaminas, além do sistema nervoso autônomo (Vázquez-Vela, Torres, Tovar, 2008).

No período pós-prandial, com a maior oferta de nutrientes, ocorre aumento da liberação de insulina que estimula a lipogênese. Neste processo, reações bioquímicas em cadeia que têm início a partir de substratos lipídicos resultam em biossíntese e esterificação de ácidos graxos (AG) para a formação de triacilgliceróis (TAG) que são incorporados e armazenados na gota lipídica do adipócito. Nesta situação, a lipogênese depende da atividade de enzimas induzidas pela insulina

como, por exemplo, a Ácido Graxo Sintase (FAS) e a Acetil-CoA Carboxilase (ACC) (Vázquez-Vela, Torres, Tovar, 2008; Kovacs, Westerp-Platenga, 2006).

Outra via de síntese, incorporação e armazenamento de lipídeos, é a lipogênese *de novo* (DNL), pela utilização de substratos não lipídicos, como os carboidratos e aminoácidos. Estudos bioquímicos postulam que esta via envolve, entre outros fatores, uma cadeia de reações que se inicia pela formação de acetilCoA (proveniente da glicólise anaeróbia) que, pela ação da ACC, resulta em formação de malonil-CoA, indispensável para a síntese de AG (Kovacs, Westerp-Platenga, 2006; Jena, Jayaprakasha, Singh, 2002).

Em contraste, em períodos inter-refeições, com a menor disponibilidade de AG e TAG e/ou maior demanda energética, o processo metabólico denominado lipólise é ativado e o conteúdo energético armazenado anteriormente sob forma de triacilgliceróis é hidrolisado em diacilglicerol (DAG) e mono-acilglicerol (MAG) para finalmente ocorrer liberação de três moléculas de ácidos graxos e uma molécula de glicerol por molécula de TAG para ser utilizado como fonte de energia. (Yeaman, 2004; Lafontan, Langin 2009).

Durante o processo lipolítico, também ocorre a re-esterificação de parte dos ácidos graxos hidrolisados antes mesmo de serem liberados na corrente sanguínea, sendo novamente re-incorporados em TAG nos adipócitos. A re-esterificação aumenta no exercício e em condições patológicas como hipertireoidismo por exemplo. (Morimoto, Kameda, Tsujita, et al 2001; Sul, Wang 1998)

O equilíbrio entre lipólise e lipogênese se reflete no volume dos adipócitos. Quando há atividade prioritariamente lipolítica, o processo de hidrólise e liberação de AG leva à redução do tamanho dos adipócitos. No processo de lipogênese onde a síntese e a incorporação de lipídios no adipócito tornam-se prevalente, verifica-se aumento no volume (hipertrofia) destas células.

A adipogênese, processo de desenvolvimento do adipócito a partir de células tronco, parece ocorrer primeiramente na fase fetal em humanos e durante a infância. É postulado que na vida adulta há baixa taxa de renovação de adipócitos, dando suporte a idéia de que o número de adipócitos pode ser pré-fixado durante a juventude e que esta fase é crucial no desenvolvimento de depósitos de gordura corporal (Muhlhausler, Smith, 2008). Por outro lado, estudos mais recentes mostram que os adipócitos possuem capacidade de hipertrofia determinada

geneticamente e que a expansão do adipócito até seu volume crítico (também determinado geneticamente) estimula o aumento do número destas células (hiperplasia ou adipogênese). A capacidade de hiperplasia e hipertrofia pode variar de acordo com a região de depósito do tecido adiposo em questão.

Os diferentes sítios de localização do tecido adiposo no organismo, desempenham suas funções - produção e secreção hormonal, lipólise, lipogênese, adipogênese, entre outras - de maneiras distintas como também respondem a estímulos externos como dietas, exercícios e drogas de formas diferentes

Entre as diferenças dos depósitos adiposos, destaca-se a diferença morfológica de volume, por exemplo, que pode modular uma série de sinalizações, como sua capacidade metabólica que, não raro, leva à obesidade e complicações relacionadas à obesidade como diabetes e hipertensão arterial (Garaulet, Hernadez Morante, et al 2006). O balanço entre o aumento e diminuição do volume celular pode ser secundário à ação de hormônios específicos, pode ser secundário à dieta e ao estilo de vida, sendo ele ativo ou sedentário ou pode ser a característica da própria região em que estes adipócitos estão depositados.

O volume dos adipócitos do tecido visceral mostram-se maiores comparativamente ao tecido subcutâneo. Na região visceral a lipólise é mais intensa e parece apresentar efeitos mais pronunciados sobre agonistas β adrenérgicos e glicocorticóides. Aqui, o produto desta intensa atividade lipolítica é drenado aos hepatócitos, podendo causar disfunções hepáticas. No entanto, esta variação metabólica entre os tecidos não está bem esclarecida (Dicker, Rydén, Näslund, et al, 2004). Ainda sobre a relação entre o volume celular e metabolismo do adipócito, a sensibilidade a insulina e captação de glicose parece ser inversamente proporcional ao volume dos adipócitos. Aqui, estreita-se ainda mais a relação entre adiposidade visceral e DM2, sendo o acúmulo desta adiposidade um preditor de alterações do metabolismo da glicose.

O conceito de que o excesso de adiposidade está associado a complicações metabólicas e hemodinâmicas que levam freqüentemente ao desenvolvimento de resistência à insulina e de doenças cardiovasculares não é recente. A adiposidade abdominal, em particular, adiposidade visceral está intimamente ligada ao desenvolvimento de resistência a insulina, hipertensão e dislipidemias. Em situações em que há expressivo acúmulo de tecido adiposo visceral e, juntamente com o aumento da produção de adipocinas, ocorre em paralelo, associação deste

tecido com o surgimento e agravamento de resistência a insulina, DM2, hipertensão e dislipidemias (Giorgino, Laviola, Eiksson, 2005). Jernas (2006), mostrou que adipócitos do mesmo tecido, isolados e separados em células maiores e menores, apresentam expressão dos genes diferentes entre si associados a obesidade e DM2 e transporte reverso do colesterol. Estas proteínas mostraram expressão mais intensa em células hipertrofiadas que células menores, comprovando que o volume celular, por si só, modula a funcionalidade do adipócito.

A distribuição do tecido adiposo varia entre os sexos e mesmo entre indivíduos que apresentam conteúdo similar de gordura corporal total. Os hormônios esteróides sexuais também estão intimamente ligados ao acúmulo e distribuição de gordura corporal. Fenótipos clássicos são o feminino ou ginóide e o masculino ou andróide. Este último é caracterizado pelo acúmulo de tecido adiposo principalmente na região abdominal visceral, enquanto o ginóide reflete a maior distribuição de gordura na região subcutânea, principalmente na glúteo-femoral. Tanto a leptina quanto a lipase de lipoproteínas, proteínas que possuem papel chave no desempenho metabólico e endócrino do TA, são reguladas, entre outros, por fatores de transcrição mediados por hormônios esteróides sexuais como a testosterona, progesterona e estrogênios.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostram de forma clara que:

1. Os territórios adiposos SC, PE e RP apresentam diferenças importantes entre si, quanto às capacidades metabólicas de seus adipócitos; principalmente no que se refere ao volume celular;
2. Muitos aspectos do seu metabolismo, em especial, os mais diretamente ligados ao armazenamento energético – captação de glicose, sua oxidação completa e sua incorporação em lipídeos – dependem da região anatômica de origem, sendo a gordura RP mais ativa;
3. O tamanho celular dos adipócitos variou entre os três territórios estudados, sendo que a gordura RP mostrou-se mais hipertrófica e a gordura SC, mais hiperplásica;
4. O tamanho celular revelou-se um fator importante associado à capacidade lipogênica da gordura;
5. A resposta lipolítica, determinada através da liberação de glicerol no meio de incubação, não apresentou correlação com o tamanho celular do adipócito;
6. A maior capacidade lipogênica da gordura RP não guardou uma relação clara com a expressão proteica de duas de suas principais enzimas da via de síntese lipídica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- Bouchard C, Després JP, Mauriêcge P. Genetic and nongenetic determinants of Regional Fat Distribution. *Endocr Rev.* 1993;14:73-93.
- Cannon B, Nedergaard J. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol Rev.* 2004;84:277-359.
- Cinti S. The Adipose Organ. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids*; 2005 Jul;73 (1):9-15.
- Cinti S. Transdifferentiation Properties of Adipocytes in the Adipose Organ. *Am J Physiol Endocrinol Metab* . In Press, 2009.
- Cousin B, Caspar-Bauquil S, Planat-bérnard V, Laharrque P, PéniCoud L, Casteilla L. Adipose tissue: a subtle and complex cell system. *J Soc Biol.* 2006;200(1):51-7.
- deFerranti S, Mozaffarian D. The Perfect Storm: Obesity, Obesity, Adipocyte Dysfunction, and Metabolic Consequences. *Clin Chem.* 2008; 54(6):945-55.
- DiGirolamo M, Medlinger S, Fertig JW. A simple method to determine cell size and number in four mamalian species. *Am J Physiol.* 1971;221:850-58.
- Dicker A, Rydén M, Näslund E, Muehlen IE, Wirén M, Lafontan M, Arner P. Effect of Testosterone on lipolysis in human pre-adipocytes from different fat depots. *Diabetologia.* 2004; 47: 420-8.
- Farooqi IS, O'Rahillys S. Genetics on Obesity I Humans. *Endocr Rev.* 2006;27(7): 710:18.
- Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MIC, Lima FB. O Tecido Adiposo como Centro Regulador do Metabolismo. *Arq Bras Endocrinol Metab* . 2006; Abril; 50 (2).
- Foufelle F, Ferré P. New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *Biochem J.* 2002;366: 377-91.
- Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Hederick MH. An Underappreciated of stem cells for biotechninology. *Trends Biotechnol.* 2006;24(4):150-4.
- Friedman, JM, Halas, JL. Leptin and the regulation of the body weight in mamals. *Nature.* 1998; 395:763-70.
- Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J. Depot-specific differences in the lipolytic effect of leptin on isolated white adipocytes. *Med Sci Monit*, 2002;8(2):BR47-55.

* De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;280: E827–E847.

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*. 2005; 183(1):13-30.

Guo ZK, Cella LK, Baum, C, Ravussin, E , Schoeller, DA. De novo lipogenesis in adipose tissue of lean and obese women: application of deuterated water and isotope ratio mass spectrometry. *Int J Obes*. 2000;24:932-37.

Garaulet M, Hernadez-Morante JJ, Lujan I, Tebar FJ, Zamora S. Fat depots in overweight/obese humans. *International Journal of Obesity*. 2006; 30:899-905.

Hausman DB, DiGirolamo M, Bartness TJ, Hausman GJ, Martin RJ. The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev*. 2001;2(4):239-54.

Izuka K, Bruick R, Liang G, Horton JD, Uyeda K. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;11;101(19):7281-6.

Jensen MD. Lipolysis: Contribution from regional fat. *Annu Rev Nutr*. 1997;17: 127-39.

Jena BS, Jayaprakasha G K., Singh RP, Sakariah KK. Chemistry and Biochemistry of (-)-Hydroxycitric from *Garcinia*. *J. Agric. Food Chem*, 50:10-22, 2002.

Jernas M, Palming J, Sjöholm K, Jennische E, Svensson PA, Gabrielson BG, Levin M, Sjögren A, Rudemo M, Lystig TC, Carisson B, Carisson LM, Lonn M. Separation of human adipocytes by size: hypertrophic fat cells display distinct gene expression. *FASEB J*, 2006 9: 1540-2.

Karpe F, Fielding BA, Coppack SW, Lawrence VJ, Macdonald IA, Frayn KN. Oscillations of fatty acid and glycerol release from human subcutaneous adipose tissue in vivo. *Diabetes*. 2005; 54:1297–1303.

Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*. 2000;404:635-43.

Kovacs EMR, Westerplanta MS. Effects of (-)-hydroxycitrate on net fat synthesis as de novo lipogenesis. *Physiol Behav*. 2006; 88:371-81.

Lafontan M, Langin D. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Prog Lipid Res*. In Press, 2009.

Leilliot C, Vidal-Puig AJ. Lipotoxicity an imbalance between lipogenesis de novo and fatty acid oxidation. *Int J Obes*. 2004;28:522-28.

M.DiGirolamo, JB Fine, K Tagra, R Rossmanith. Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 1998;274:1460-7.

Mayes JS, Watson GH. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. *Obes Rev*.2004;5(4):197-216.

Meliga E, Strem BM, Duckers HJ, Serruys PW. Adipose-derived cells. *Cell Transplant*. 2007;16(9):963-70.

Menendez JA, Vazquez- Martin A, Ortega FJ, Fernandez- Real JM. Fatty Acid Synthase: Association with Insulin Resistance, Type 2 Diabetes and Cancer. *Clin Chem*. 2009;55:3425-38.

Miyoshi H, Souza SC, Zhang H, Strissel K J, Christoffolete MA, Kovsan J, Rudich A, Kraemer FB; Bianco AC, Obin MS, Greenberg AS. Perilipin promotes hormone-sensitive lipase-mediated adipocyte lipolysis via phosphorylation-dependent and -independent mechanisms. *J Biol Chem*. 2006;9;281(23):15837-44.

Montague CT, O'Rahilly S. Causes and Consequences of Visceral Adiposity. *Diabetes*. 2000;(49):883-8.

Morimoto C, Kameda K, Tsujita T, Okuda, H. Relationships between lipolysis induced by various lipolytic agents and hormone-sensitive lipase in rat fat cells. *J Lipid Res*. 2001;42:120-27.

Mottagui-Tabar S, Ryden M, Lofgren P, Faulds G, Hoffstedt J, Brookes AJ, Andersson I, Arner P. Evidence for an important role of perilipin in the regulation of human adipocyte lipolysis. *Diabetologia*. 2003;46(6):789-97.

Muhlhausler B, Smith SR. Early Life of Metabolic Dysfunction: role of the adipocyte. *Trends Endocrinol Metab* . 2008;20(2):51-7.

Rodbell, M. Metabolism of isolated fat cells. *J Biol Chem*. 1964;239(2):375-80.

Sethi, JK, Puig-Vidal, AJ. Adipose Tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaption. *J Lipid Res*. 2007;48:1253-62.

Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action. *N Eng J Med*. 1999; 341:248-257.

Sul HS, Wang D. Nutritional and hormonal regulation of enzymes in fat synthesis: Studies of fatty acid synthase and mitochondrial Glycerol-3-phosphate Acyltransferase Gene transcription. *Annu Rev Nutr*. 1998; 18: 331-51.

Soenen S, Mariman EC, Vogels N, Bouwman FG, den Hoed M, Brown L, Westep'Platenga MS. Relationship betwwn perilipin gene polymorphisms and body wright and body composition during weight loss and weight maintenance. *Physiol Behav*. 2009 Jan 21. In press

Vázquez-Vela MEF, Torres N, Tovar AR. White Adipose Tissue as Endocrine Organ and Its role in Obesity. Arch Med Res. 2008;39:715-28.

Yeaman S. Hormone -sensitive lipase- new roles for a old enzyme. Biochem J. 2004;22:379-11.

Zao FQ, Reating AF. Expression and regulation of Glucose Transporters in the Bovine Mamary Gand. J Dairy Sci. 2007;90(Suppl E):E76-E86.