

REGULAÇÃO HORMONAL DA GLICERONEOGÊNESE

Franciele Neves Moreno

Especialista em Fisiologia Humana pela Universidade Estadual de Maringá –UEM; Graduada em Ciências Biológicas – Licenciatura pela Universidade Estadual de Maringá – UEM; E-mail: franciленevesmoreno@ymail.com.

Márcia do Nascimento Brito

Doutora em Fisiologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo – FMRP/USP; Graduada em Ciências Biológicas – Licenciatura pela Universidade Estadual de Maringá – UEM; E-mail: mnbrito@uem.br.

RESUMO: A gliceroneogênese é a via metabólica responsável pela conversão de piruvato, lactato e aminoácidos, principalmente alanina, em glicerol-3-fosfato (G3P), especialmente durante o jejum, garantindo a síntese de triacilgliceróis (TAG). Tem como enzima-chave a fosfoenolpiruvato carboxiquinase citosólica (PEPCK-C). Atualmente ela é considerada um mecanismo de restrição à lipólise, moderando a formação de corpos cetônicos e, portanto, a acidose. Esta via está presente no tecido adiposo branco e marrom e também no fígado. Ela pode ser importante no deslindamento da obesidade humana e do diabetes tipo 2. Neste trabalho apresentamos os fatores hormonais, tais como insulina, glicocorticóides, glucagon, epinefrina, norepinefrina e os agonistas β -adrenérgicos, que são os principais reguladores desta via. O sistema nervoso simpático também participa desta regulação, entretanto é uma resposta decorrente dos fatores metabólicos e hormonais. Além disto, outros fatores também participam do controle da gliceroneogênese, tais como as citocinas ou adipocinas, uma vez que elas reduzem a expressão do gene da PEPCK-C e, conseqüentemente, a gliceroneogênese; entretanto, elas induzem o aumento dos AGL. A regulação da gliceroneogênese é dependente do estado metabólico do indivíduo e do tipo do tecido ou do órgão onde ela ocorre e, principalmente, por meio da regulação da PEPCK-C.

PALAVRAS-CHAVE: Gliceroneogênese; PEPCK-C; Tecido Adiposo; Fígado; Controle Hormonal.

HORMONE REGULATION OF GLYCERONEOGENESIS

ABSTRACT: Glyceroneogenesis is the metabolic pathway which causes the conversion of pyruvate, lactate and aminoacids, mainly alanin, into glycerol-3-phosphate (G3P), especially during fasting, and thus guarantees the synthesis of triacylglycerols (TAG). Cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK-C) is its key enzyme and is currently thought to be a restrictive mechanism to lipolysis, moderating the formation of ketone bodies and thus acidosis. The pathway lies in the white and brown adipose tissue and also in the liver. It may be important for the solution of human obesity and Type II diabetes. Current

research analyzes the hormone factors, such as insulin, glycocorticoids, glucagon, epinephrine, norepinephrine and β -adrenergic agonists, which are the main pathway's regulators. The sympathetic nervous system also participates in the regulation although it is a response caused by metabolic and hormonal factors. Further, other factors also partake of glyceroneogenesis control, such as cytokines or adipokines, since they decrease PEPCK-C's gene expression and thus glyceroneogenesis. However, they cause an increase in AGL. The regulation of glyceroneogenesis depends on the subject's metabolic state and on the type of tissue and organ in which it occurs, mainly by PEPCK-C regulation.

KEYWORDS: Glyceroneogenesis; PEPCK-C; Adipose tissue; Liver; Hormone control.

INTRODUÇÃO

O tecido adiposo branco (TAB) tem como principal função contribuir com o controle do metabolismo energético, mobilizando ou estocando energia na forma de triacilglicerol (TAG), que é formado pela união de três moléculas de ácidos graxos (AG) e uma molécula de glicerol por meio de ligações ésteres. A reserva de TAG deve ser adequada, de acordo com a demanda energética dos outros tecidos.

Os tecidos periféricos utilizam preferencialmente a glicose e os ácidos graxos livres (AGL) para a sua produção energética, consequentemente os TAG do TAB são continuamente hidrolisados para atender às necessidades energéticas. O conteúdo de TAG armazenado no TAB é dependente do balanço entre a velocidade de degradação (lipólise) e a velocidade de síntese (lipogênese). A lipólise é estimulada, em períodos de balanço energético negativo (jejum), com o objetivo de liberar AGL e glicerol que serão

utilizados como fonte de energia em diversos tecidos corporais como o fígado, o músculo esquelético e o cardíaco. Em períodos de balanço energético positivo (após a ingestão alimentar), a lipogênese é estimulada, direcionando parte da energia obtida da dieta para a síntese e armazenamento de TAG no TAB.

Há estudos mostrando que mamíferos podem apresentar dificuldades de controlar a lipólise em intensidade adequada de modo a assegurar a quantidade exata de energia necessária ao indivíduo (HANSON; BALLARD; RESHEF, 2006). Dessa forma, a lipólise libera quantidade de AGL maior do que as necessidades energéticas imediatas. Um risco metabólico potencial da excessiva lipólise é que o excesso de AGL interfere com a captação de glicose do sangue e com seu metabolismo no músculo esquelético (RANDLE et al., 1963) resultando em resistência à insulina e, por fim, no diabetes mellitus tipo 2 (RODEN, 2004). Portanto, seria razoável considerar que as células poderiam reverter parte desses AGL de volta aos estoques de TAG (reesterificação), permitindo um controle mais fino do processo total. Estima-se que cerca de 60% do total de ácidos graxos formados pela atividade lipolítica, em humanos, sejam reesterificados no estado de jejum, sendo que a maior parte desta reesterificação ocorre no tecido adiposo branco (JENSEN; EKBERG; LANDAU, 2001). Esse processo é essencialmente um "ciclo fútil", que resulta na preservação de ácidos graxos que não seriam utilizados para fornecer energia pelos tecidos específicos, como o fígado e os músculos, com gasto de ATP para a ressíntese de triacilglicerol.

A síntese de TAG ocorre no fígado, no tecido adiposo e nos músculos esqueléticos, sendo uma via metabólica importante para a deposição de gorduras e para manutenção da homeostase energética de

todos os vertebrados, essa síntese requer ácidos graxos e glicerol-3-fosfato (G3P) (KALHAN et al., 2001). Portanto, o fornecimento do G3P é essencial para o funcionamento adequado do TAB, síntese de TAG, bem como a reesterificação de AGL. O TAB obtém G3P de três formas possíveis (Figura 1): (a) pela síntese a partir de carbonos de glicose, através de um intermediário da via glicolítica (diidroxiacetona); (b) pela fosforilação direta do glicerol (pela ação da enzima gliceroquinase -GyK) e (c) pela via gliceroneogênica, formação de G3P por reversão parcial da via glicolítica (CHAVES et al., 2006).

A glicose é o principal precursor de glicerol-3-fosfato para a síntese de triacilglicerol em todos os tecidos durante o estado alimentado, quando os ácidos graxos da dieta são convertidos a triacilglicerol no tecido adiposo branco e fígado. No entanto, no estado de jejum, quando a lipólise no TAB é estimulada pela reduzida concentração de insulina circulante, a disponibilidade de glicose para produzir glicerol-3-fosfato é limitada; essa glicose é preservada para outros tecidos como o encéfalo e as hemácias. O glicerol não pode ser usado pelo tecido adiposo branco porque sua refosforilação, por meio da enzima gliceroquinase, não ocorre de maneira significativa, uma vez que a expressão gênica dessa enzima é muito baixa, ao contrário do que ocorre no fígado e no tecido adiposo marrom, onde a gliceroquinase tem atividade considerável e pode promover a reutilização do glicerol para a síntese de triacilglicerol (ROBINSON; NEWSHOLME, 1969; BERTIN, 1976).

Na década de 1960, dois grupos de pesquisadores trabalhando independentemente (BALLARD; HANSON; LEVEILLE, 1967; RESHEF; NIV; SHAPIRO, 1967) descreveram a síntese de glicerol-3-fosfato no tecido adiposo branco por meio de uma versão abreviada da

gliconeogênese. Esta via metabólica, mais tarde denominada gliceroneogênese (GORIN; TAL-OR; SHAFRIR, 1969), converte intermediários tais como lactato, piruvato e alanina a glicerol-3-fosfato, e envolve enzimas como a piruvato carboxilase, alanina e aspartato aminotransferase e a forma citosólica da fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK-C), enzimas que estão normalmente associadas com a gliconeogênese renal e hepática.

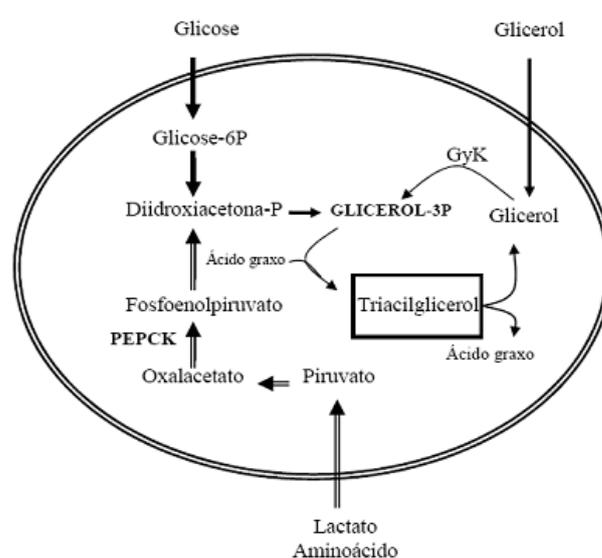


Figura 1 Fontes de glicerol-3-fosfato nos adipócitos branco e marrom e no fígado. Explicação encontra-se no texto.

Fonte: Chaves et al., 2006.

Durante o jejum, o glicerol liberado pela hidrólise dos TAG, no tecido adiposo, é pouco utilizado para a reesterificação de AGL devido à baixa atividade da enzima gliceroquinase nesse tecido. Por este motivo, tem sido proposto que nestas condições, o TAB gera G3P a partir da glicose, via glicólise ou, alternativamente, a partir do piruvato pela via gliceroneogênica (KALHAN et al., 2001). O fornecimento do G3P a partir da glicose durante o jejum é limitado, como já mencionado, então a

via responsável pelo seu fornecimento no TAB é a gliceroneogênese (HANSON; RESHEF, 2003). A gliceroneogênese envolve a carboxilação do piruvato a oxaloacetato, a descarboxilação do oxaloacetato a fosfoenolpiruvato e, subsequentemente, a produção do G3P. Entre as enzimas envolvidas na gliceroneogênese, a PEPCK-C, é considerada enzima-chave. Alterações na expressão dessa enzima em vários tecidos estão associadas com mudanças no acúmulo ou na depleção de TAG (KALHAN et al., 2008).

Embora a gliceroneogênese tenha sido descrita primeiramente no tecido adiposo branco, estudos mais recentes demonstram que ela também ocorre no fígado de roedores (BOTTON; KETTELHUT; MIGLIORINI, 1995) e de humanos (KALHAN et al., 2001). O significado fisiológico da gliceroneogênese hepática é que o fígado capta ácidos graxos livres do sangue durante o estado de jejum e converte cerca de 40% deles em corpos cetônicos (que serão utilizados pelos tecidos periféricos) ou para CO₂ (produzindo energia para o próprio fígado), os outros 60% são reesterificados a triacilgliceróis no fígado, empacotados a VLDL e liberados para o tecido adiposo branco ou músculo esquelético para adicional metabolização. Dessa forma, o fígado exerce papel crítico no ciclo geral de ácidos graxos-triacilgliceróis. Esse papel do fígado na reciclagem de ácidos graxos-triacilgliceróis em humanos foi demonstrado no estado de jejum de 72 horas (JENSEN; EKBERG; LANDAU, 2001).

Estudos mostram que a gliceroneogênese está ativa também no tecido adiposo marrom (BRITO et al., 1999), mas sua função ainda não está totalmente esclarecida. É possível que ela regule o ritmo de reesterificação de ácidos graxos controlando, assim, a liberação de ácidos graxos para a mitocôndria. Está bem estabelecido que os

ácidos graxos sejam responsáveis pela ativação da proteína desacopladora-1 (UCP-1), no tecido adiposo marrom, e induzem a transcrição de seu gene (LOWELL; SPIEGELMAN, 2000). Existe, também, considerável atividade da PEPCK-C no tecido adiposo marrom. De fato, a atividade dessa enzima neste tecido é maior que a encontrada em outros tecidos de mamíferos (HAHN; KIRBY, 1974; HAHN; HASSANALI, 1982). A transcrição do gene da PEPCK-C no tecido adiposo marrom é induzida pela noradrenalina (HAHN; KIRBY, 1974) de modo que, como já descrito, é possível que o papel da gliceroneogênese seja assegurar o ritmo de liberação de ácidos graxos para a mitocôndria, permitindo o ritmo apropriado da atividade da UCP-1.

Uma vez que a liberação aumentada de AGL pelo tecido adiposo branco é um fator crítico no desenvolvimento da diabetes tipo 2, a ativação da transcrição do gene da PEPCK-C, causada pela rosiglitazone (droga usada no tratamento do diabetes tipo 2 humano), aumentaria a gliceroneogênese e diminuiria a liberação de AGL pelo tecido adiposo (HANSON; RESHEF, 2003). A supressão da expressão do gene da PEPCK-C no TAB resulta na lipodistrofia, enquanto que a sua expressão excessiva, promove a obesidade.

Como já mencionado, a gliceroneogênese está ativada durante o jejum, no TAB e no TAM, e também no fígado, como parte do ciclo dos ácidos graxos-TAG. Apesar do grande número de artigos publicados após a descoberta da relevância metabólica da gliceroneogênese sua importância *in vivo* ainda não havia sido estabelecida (HANSON; RESHEF, 2003). No entanto, vários estudos recentes têm reexaminado a importância dessa via em ratos (BOTTON; KETTELHUT; MIGLIORINI, 1995; BRITO, M.; BRITO, N.; MIGLIORINI, 1992; BRITO et al., 1999), camundongos (OLSWANG et

al., 2002; TORDJMAN et al, 2003) e em humanos (KALHAN et al, 2001) e têm mostrado que esta via é responsável pela principal fonte de glicerol-3-fosfato no fígado e tecido adiposo branco durante o estado de jejum. Como a gliceroneogênese regula o ritmo de reciclagem de ácidos graxos no tecido adiposo branco, ela pode ser importante no deslindamento dos mecanismos da obesidade humana e do diabetes tipo 2. Assim, nosso objetivo é discutir alguns dos mecanismos hormonais que regulam essa importante via metabólica no tecido adiposo branco, marrom e fígado.

2 DESENVOLVIMENTO

A gliceroneogênese é considerada um mecanismo de restrição à lipólise, moderando a formação de corpos cetônicos e, portanto, a acidose (RESHEF; HANSON; BALLARD, 1969, 1970). Esta via se apresenta aumentada em animais jejuados e diabéticos. Além disso, ela é uma das principais fontes de G3P, nos tecidos adiposos branco e marrom e no fígado. A contribuição de carbonos de glicídios para a síntese do glicerol total, incorporados no TAG do TAB, foi estimada em cerca de 40%, indicando uma participação importante da gliceroneogênese (56%) para a formação de G3P, mesmo em animais alimentados com dieta balanceada (FRASSON, 2010).

Os mecanismos responsáveis pelo controle da gliceroneogênese ainda estão sendo delineados. Além disso, a regulação da enzima PEPCK, no fígado e nos tecidos adiposos branco e marrom, é fundamental para controlar a gliceroneogênese nesses tecidos (HANSON; RESHEF, 2003).

A PEPCK-C é uma enzima chave da

gliceroneogênese, sua deleção gênica reduz a gordura corporal e aumenta a mobilização de ácidos graxos do TAB enquanto seu excesso reduz a concentração de ácidos graxos plasmáticos livres, observados em animais obesos e tratados com tiazolidinediones (TZD) (WILDING, 2006). A atividade da PEPCK-C é reflexo direto de modificações na síntese e na degradação do seu mRNA sendo que as formas cis e trans dos ácidos retinóicos são os indutores da expressão do gene da PEPCK-C (FOREST et al., 2003).

Em 1995, Tontonoz e colaboradores identificaram dois sítios de ligação de receptores PPAR δ /X retinóide, no gene promotor da PEPCK-C. Um é o gAF1/PCK1 (gene promotor da PEPCK, tipo 1) e o outro é o PCK2 (gene promotor da PEPCK, tipo 2). Os PPAR δ são os alvos para as drogas antidiabéticas TZDs e os seus protótipos (rosiglitazone). Os TZDs induzem a transcrição do gene da PEPCK-C no tecido adiposo. Os rosiglitazones têm ação direta no PCK2, sendo o único elemento capaz de mediar à estimulação do TZD. Além disso, a regulação da PEPCK-C pelo PPAR δ é célula seletiva e com específicos isotipos, uma vez que a rosiglitazone induz a expressão do gene da PEPCK seletivamente em adipócitos brancos e os ativadores, PPAR α e PPAR β , foram ineficientes (FOREST et al., 2003).

Pacientes diabéticos (tipo 2), após dois meses de tratamento com tiazolidinedione (TZD), apresentaram aumento da expressão de genes envolvidos no aumento da síntese de ácidos graxos, da β -oxidação, do transporte de elétrons e da fosforilação oxidativa no tecido adiposo. Além disso, o TZD rosiglitazone aumenta a expressão do gene promotor da PEPCK-C (PCK1) e da gliceroneogênese, e o pioglitazone aumenta o mRNA do PCK1 do tecido adiposo desses pacientes

(CADOUDAL et al., 2007).

Sabe-se que durante os estados de jejum ou diabetes, a síntese de TAG é aumentada no fígado enquanto a geração do G3P pela glicólise está reduzida; estas respostas são acompanhadas por significativa ativação da gliceroneogênese para a formação de G3P. A fosforilação do glicerol pela enzima gliceroquinase (GyK), que é a principal via geradora de G3P no fígado, é pouco afetada nesses estados metabólicos (SANTOS et al., 2007). Portanto, a atividade dessa enzima no fígado não é prejudicada pela privação alimentar nem pelo diabetes. Ao contrário, a atividade da PEPCK-C é marcadamente elevada no fígado de ratos diabéticos, o que está em acordo com o aumento observado na gliceroneogênese e na gliconeogênese.

Durante o jejum os adipócitos liberam aproximadamente 77% de ácidos graxos e reesterificam cerca de 20%. Por esse motivo, esse estado está associado ao aumento da liberação de ácidos graxos para atender às necessidades energéticas dos tecidos periféricos, com redução na percentagem de ácidos graxos reesterificados (FRASSON, 2010). Foi observado, também, que o glicerol aumenta durante o jejum, se comparado com o lactato. Já a síntese de G3P a partir de glicose é muito reduzida enquanto a gliceroneogênese está muito ativada no tecido adiposo durante o jejum ou diabetes. Sendo assim, a grande quantidade de glicerol liberada atua como substrato no fígado para a gliconeogênese, contribuindo para nova síntese de glicose (SANTOS et al., 2007; FRASSON, 2010).

Não somente o jejum e o diabetes alteram a atividade da gliceroneogênese. A alimentação de ratos com dieta rica em proteínas e livre de carboidratos (HP), também pode alterar a atividade gliceroneogênica, como observado no

TAB retroperitoneal (RETRO) e epididimal (EPI). Acredita-se que a preservação de gordura corporal em ratos HP se deve à eficiência maior do tecido adiposo destes animais em utilizar os ácidos graxos da dieta. Nestes ratos ocorre diminuição da via glicolítica, redução da refosforilação do glicerol e aumento da gliceroneogênese. Isto acontece porque são efeitos compensatórios para garantir o suprimento adequado e contínuo de G3P necessário para o armazenamento de TAG no TAB. No entanto, há diferenças nas respostas observadas no tecido adiposo branco de acordo com sua localização (EPI e RETRO). Essas diferenças podem ser atribuídas à sensibilidade dos tecidos, relacionados aos fatores neurais e hormonais que controlam sua atividade. O tecido adiposo epididimal parece ser menos responsivo às condições energéticas sistêmicas do que o depósito retroperitoneal. Provavelmente isto acontece com o objetivo de fornecer energia aos tecidos locais, testículos e glândulas anexas (FRASSON, 2010).

Ratos alimentados com dieta HP apresentam redução de peso no tecido adiposo epididimal. Nestes animais ocorre falta de estímulo através da insulina, contrabalanceada pela diminuição do estímulo simpático lipolítico, culminando em um menor peso (FRASSON, 2010). Além disso, esses animais apresentam uma redução na atividade da PEPCK-C e de seu mRNA no tecido adiposo (FOREST et al., 2003). A adaptação à dieta HP resulta na redução da capacidade termogênica, evidenciada pela diminuição no peso do TAM interescapular, que foi acompanhada por uma redução da proteína desacopladora mitocondrial (UCP-1) e da atividade do citocromo oxidase. A preservação da quantidade de gordura corporal (70%), observada nos animais HP, pode estar relacionada à redução da capacidade termogênica do TAM (BRITO, M. et al., 1997).

Em experimentos *in vitro* foi mostrado que a adaptação à dieta HP induz aumento na atividade gliceroneogênica do tecido adiposo branco, avaliado pelas taxas da incorporação do ^{14}C -piruvato em TAG-glicerol e pelo aumento das atividades da PEPCK-C. Devido à ausência de carboidrato, nesta dieta, acredita-se que o aumento da gliceroneogênese representa um mecanismo compensatório por causa da geração reduzida de G3P via glicólise. A gliceroneogênese hepática é responsável por 80% do total de formação do glicerol-3-fosfato nos ratos tratados com dieta HP. O aumento da gliceroneogênese, nos animais HP, é importante para a esterificação de ácidos graxos, derivados da dieta, e da preservação de estoques de gordura corpórea (BRITO, S. et al., 2006). Além disso, a lipogênese é marcadamente reduzida em carcaças, fígado e no tecido adiposo destes ratos (BRITO, M. et al., 1997). Os adipócitos de ratos HP têm redução na sensibilidade à ação lipolítica de agentes intra e extracelulares e uma pequena redução na atividade do hormônio-sensitivo lipase, não tendo alteração no conteúdo enzimático dessa enzima (BRITO, S. et al., 2006).

Ao contrário da dieta HP, a dieta cafeteria, ou seja, hipercalórica e hiperlipídica (HCHL), fornece ao organismo uma quantidade substancial de carboidratos e induz o aumento da disponibilidade de ácidos graxos para o tecido adiposo branco (TAB) e a síntese de TAG, com a acumulação de gordura corpórea. Esta dieta aumenta, marcadamente, a atividade da GyK no TAB, contradizendo a atividade diminuída ou não existente desta enzima neste tecido. A produção do G3P pela fosforilação direta do glicerol é ativada por esta dieta, isto é indicado pelo aumento da atividade da GyK e pela elevada síntese de glicerol-3-fosfato a partir do glicerol nesses tecidos. Além disso, a produção de G3P, a partir da diidroxiacetona pela via glicolítica, também

é ativada pela dieta cafeteria e esta induz a redução do fluxo gliceroneogênico no tecido adiposo branco, evidenciado pela redução da atividade da PEPCK-C e das menores taxas da síntese de TAG a partir do piruvato (CHAVES et al., 2006). Em ratos HCHL, os fatores metabólico-hormonais são mais importantes que os neurais em relação ao peso do tecido. Nestes animais, a atividade lipolítica é alta e a gliceroneogênica é baixa (FRASSON, 2010). Os animais alimentados com a dieta HCHL apresentam aumento significativo dos depósitos de gordura.

Indivíduos obesos, aparentemente, apresentam aumento no número das células T. A elevada produção de interferon- δ (INF- δ), por estas células, induz a superprodução de ácidos graxos pelos adipócitos em certas situações, como a exposição ao frio, resultando em aumento na concentração de ácidos graxos plasmáticos, o que poderia estar envolvido na resistência insulínica induzida pela obesidade (KHAZEN et al., 2007).

No tecido adiposo marrom, de ratos, a gliceroneogênese e a atividade da PEPCK são estimuladas pela exposição ao frio. Embora esse efeito possa parecer contraditório, o que se verifica é o seguinte: a ativação pronunciada de hidrólise de TAG é induzida pelo frio, há também aumento na geração de G3P a partir da glicose e do glicerol, mas não o suficiente para manter a síntese adequada de TAG; dessa forma, deve ocorrer, também, aumento compensatório na gliceroneogênese (MOURA et al., 2005), com elevação pronunciada da atividade da PEPCK neste tecido. Além disso, atividade da GyK no TAM, em ratos expostos ao frio, aumenta a produção do G3P contribuindo para a manutenção de estoques de lipídios (FESTUCCIA et al., 2003). Os ácidos graxos pré-formados podem ser um fator importante no controle da gliceroneogênese do TAM, e uma clara indicação que isto acontece

é que 50% da quantidade de glicerol-3-fosfato sintetizada pelo TAB, de ratos expostos ao frio, são derivados de fontes que não são carboidratos.

2.1 FATORES HORMONAIS ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DA GLICERONEOGÊNESE

A gliceroneogênese e a expressão do gene da PEPCK-C nos adipócitos têm sido descritas atualmente como sendo reguladas no jejum, por uma série de hormônios, nutrientes e drogas hipolipidêmicas, conhecidos por afetar o metabolismo lipídico, tais como agonistas β -adrenérgicos, glicocorticóides, ácidos retinóicos, glicose e TZDs. Todos estes têm efeitos que são rápidos e sua ação é adipócito-específica e gene-seletivo sobre a expressão do PCK1 (RESHEF; HANSON, 1972; KHAZEN et al., 2007; FOREST et al., 2003). A expressão gênica da PEPCK-C é induzida por hormônios catabólicos, como glucagon e epinefrina e é inibida pela insulina. A sua transcrição no TAB é induzida pelo AMPc e inibida pelos glicocorticóides e também pela insulina (Tabela 1), enquanto no TAM a transcrição de seu gene é induzida pela norepinefrina.

Uma vez que a gliceroneogênese é induzida pelo jejum, esperava-se que os agonistas β -adrenérgicos, tais como noradrenalina e/ou isoproterenol, estimulassem a expressão do gene da PEPCK-C. No entanto, resultados mostram que eles reduzem a transcrição desse gene, por meio de um mecanismo envolvendo receptores para glicocorticóides (Tabela 1). A ação dos glicocorticóides sobre a gliceroneogênese é bastante interessante uma vez que esses hormônios induzem a expressão da PEPCK-C no fígado enquanto inibem no tecido adiposo branco. Os glicocorticóides

são hormônios liberados em situações de estresse, suprindo combustíveis para o sangue, portanto, atuam como estimulantes da produção de glicose no fígado e de redutores da reesterificação de ácidos graxos no TAB, aumentando os níveis de glicose e AGL na circulação. Além disso, os glicocorticóides diminuem a transcrição do gene da PCK1 e reprime os efeitos de todos os seus indutores. Utilizando o glicocorticóide sintético, dexametasona, observou-se redução na expressão basal do gene da PEPCK-C e, também, estimulação por todos os indutores conhecidos, como a isoprenalina ou o AMPc, os ácidos retinóicos, compostos da classe dos antidiabéticos TZD e ácidos graxos (FOREST et al., 2003).

Observou-se que existe uma relação inversa entre a concentração da insulina e a atividade da PEPCK-C no tecido adiposo branco. A insulina também é um possível modulador da atividade da GyK no TAB (FRASSON, 2010). Mas, a glicose e/ou a insulina não tem efeito sobre a atividade da GyK no TAM (KAWASHITA et al., 2002). A via glicolítica é estimulada pela insulina, e na deficiência deste hormônio é observado aumento na atividade do sistema nervoso simpático (SNS). A via gliceroneogênica, é inibida pela insulina e ativada pelo SNS e a via de fosforilação do glicerol, depende da inervação simpática do tecido adiposo, além de outros fatores hormonais e/ou metabólicos (FRASSON, 2010).

Tabela 1 Efeitos dos hormônios na expressão e transcrição da PEPCK-C, nos tecidos adiposos e fígado.

	EXPRESSION	TRANSCRIÇÃO
Geral	Glucagon (+) Epinefrina (-) Insulina (-)	
TAB	Glicocorticóides (-)	AMPc (+) Insulina (-)
TAM		Norepinefrina (-)
Fígado	Glicocorticóides (+)	

(+) estimula; (-) inibe

A insulina tem papel importante na captação de glicose no TAB e o SNS, aparentemente não interfere neste processo, desempenhando um papel estimulatório somente em situações de deficiência insulínica, como no diabetes (FRASSON, 2010). Em situações de redução do número de receptores β -adrenérgicos nos adipócitos, através da infusão prolongada de isoproterenol, observou-se aumento da sensibilidade das células à ação da insulina em ratos (KHAZEN et al., 2007).

Alguns resultados são sugestivos de que há uma interação (“crosstalk”) entre insulina e as catecolaminas, para a manutenção da gliceroneogênese no TAB, a insulina mantendo o papel inibitório e as catecolaminas aumentando a atividade desta via. As catecolaminas são ativadoras primárias da mobilização de AGL do TAB, que é induzida em algumas situações, como no jejum. A insulina estimula a formação do G3P no TAB epididimal, a partir da via glicolítica e inibe a via gliceroneogênica. Além disso, este hormônio inibe a mobilização de ácidos graxos do TAB sendo o fator hormonal mais importante envolvido na regulação da lipogênese (FRASSON, 2010).

No tecido adiposo marrom (TAM), a gliceroneogênese é bastante ativa, representando a

principal fonte de G3P. A gliceroneogênese, neste tecido, é controlada, predominantemente, por fatores hormonais e/ou metabólicos. A insulina exerce, aparentemente, uma ação inibitória, para o fluxo gliceroneogênico, visto que a gliceroneogênese está sempre elevada quando as concentrações plasmáticas deste hormônio se encontram reduzidas. Geralmente isto é observado nas seguintes situações: jejum, diabetes, adaptação à dieta HP, ou seja, situações em que há redução da insulina plasmática (MOURA et al., 2005). Festuccia et al. (2003) observaram que o jejum de 48h ou curtos períodos de deficiência insulínica (três dias) induzem elevação da gliceroneogênese no TAM, evidenciada pelo aumento da capacidade do tecido em incorporar o piruvato em glicerol-3-fosfato, para a síntese de TAG.

Em alguns estudos realizados em ratos submetidos a diferentes dietas, tais como a HP e a HCHL e balanceada, foram observadas diferenças no controle hormonal do funcionamento da gliceroneogênese e das outras vias de geração do G3P. Geralmente nas dietas HP e HCHL o fator hormonal é mais importante que o estímulo neural (FRASSON, 2010). Animais tratados com dieta HP apresentam níveis de GyK, no TAM, reduzidos e pequena redução na utilização da glicose. Estes efeitos resultam da combinação da baixa concentração de insulina com menor atividade simpática do TAM. Isto ocorre por causa da ausência prolongada de carboidratos na dieta HP. Sendo assim, a elevação na atividade gliceroneogênica é um mecanismo compensatório da produção reduzida de G3P a partir da glicose e glicerol, causada pela diminuição na glicólise e na atividade da GyK (MOURA et al., 2005).

Segundo Frasson (2010), os animais HCHL têm aumento no peso dos depósitos de TAB (epididimal e retroperitoneal), independentemente

da integridade da inervação do tecido. A ausência do efeito da desnervação do tecido pode ser explicada pela alta concentração da insulina plasmática. Além disso, a insulina é o fator predominante no controle da produção do G3P no TAB em ratos alimentados com dieta de cafeteria (KHAZEN et al., 2007).

Durante exposição ao frio, em que ocorre elevação da atividade simpática e redução da concentração de insulina, foi observada elevação da gliceroneogênese no TAM. Estudos mostram aumento de quatro vezes na taxa da incorporação de substratos não glicídicos no glicerol, *in vivo*, e aumento de três vezes na atividade da PEPCK no TAM. Esse aumento da gliceroneogênese no TAM ocorre simultaneamente ao aumento da necessidade do uso do glicerol-3-fosfato, para esterificar os AGs pré-formados e os resultantes da elevada atividade da lipase lipoprotéica do TAM, nessas condições (MOURA et al., 2005).

Em indivíduos com diabetes ocorre diminuição da concentração da insulina no plasma e, conseqüentemente, diminuição da captação de glicose, que leva ao aumento da gliceroneogênese. A atividade da GyK também está reduzida nesses animais (FRASSON, 2010).

Os TZD são drogas antidiabéticas orais que aumentam a sensibilidade dos tecidos à insulina, reduzindo a hiperglicemia no diabetes tipo 2. Eles ativam a isoforma gama de receptores de PPAR, que regula a expressão de vários genes, envolvidos no metabolismo nos múltiplos tecidos insulino-sensitivos. Além disso, a administração da rosiglitazone (um tipo de TZD) a ratos insulino-resistentes induz aumento na gliceroneogênese, que é acompanhado de melhora no quadro de dislipidemia, bem como diminuição no TAG plasmático (CADOUDAL et al., 2007).

O tecido adiposo secreta uma série de citocinas, chamadas adipocinas, que influenciam os processos fisiopatológicos, tais como inflamação e câncer. Citocinas simples, como $TNF\alpha$, **IL-1** e **IL-6**, ou interferons (INF), parecem ter importantes papéis na regulação do metabolismo dos adipócitos. Estas citocinas são secretadas particularmente em resposta à infecção ou inflamação, comunicação intracelular e mediadores intercelulares. O INF- δ exerce efeito adipócito-específico e gene-seletivo, induzindo redução rápida e intensa na expressão da PEPCK-C e na gliceroneogênese, tanto em roedores como em humanos e, por isso, aumenta os AGL (KHAZEN et al., 2007).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A via gliceroneogênica é controlada principalmente por fatores hormonais. Estes fatores regulam as vias formadoras de G3P, de acordo com a necessidade do indivíduo e do tecido, com o objetivo de manter os estoques de TAG e evitar a acidose metabólica. Além disso, a regulação da PEPCK-C é fundamental para controlar a via gliceroneogênica no fígado, no TAB e no TAM.

Os hormônios envolvidos na regulação da via são a insulina, os glicocorticóides, o glucagon, a epinefrina, a norepinefrina. A insulina, os glicocorticóides e os agonistas β -adrenérgicos, tais como noradrenalina e isoproterenol inibem a expressão gênica da PEPCK-C e, conseqüentemente, inibe a gliceroneogênese. No entanto, a insulina estimula a atividade da GyK no TAB, favorecendo a fosforilação do glicerol e também a via glicolítica. No TAM a insulina não exerce efeito sobre a GyK. Os hormônios catabólicos, como o glucagon

e a epinefrina, induzem a expressão gênica da PEPCK-C. No TAM a transcrição gênica da PEPCK-C é induzida pela norepinefrina, resultando em aumento da atividade gliceroneogênica. Alguns experimentos sugerem que há interação entre insulina e catecolaminas, ou seja, uma interferência de comunicação entre elas. Entretanto, são necessários mais estudos para corroborar esta informação, além de observar como isto acontece exatamente.

Alguns peptídeos também estão envolvidos na regulação da gliceroneogênese, tais como as citocinas ou adipocinas. Esses peptídeos reduzem a expressão do gene da PEPCK e, conseqüentemente, a gliceroneogênese, no entanto induzem aumento dos AGL.

A regulação neural, exercida pelo sistema nervoso simpático, parece ter efeito estimulador na geração de G3P a partir da gliceroneogênese. No entanto, isso sempre ocorre na ausência de insulina. Além disso, o sistema nervoso simpático estimula, diretamente, a enzima GyK, que eleva a produção de G3P.

REFERÊNCIAS

- BALLARD, F. J.; HANSON, R. W.; LEVEILLE, G. A. P-nolpyruvate carboxykinase and the synthesis of glyceride-glycerol from pyruvate in adipose tissue. **J. Biol. Chem.**, v. 242, n. 11, p. 2746-2750, 1967.
- BERTIN, R. Glycerokinase activity and lipolysis regulation in brown adipose tissue of cold acclimated rats. **Biochimie**, v. 58, n. 4, p. 431-434, 1976.
- BOTTON, L. M.; KETTELHUT, I. C.; MIGLIORINI, R. H. Increased adipose tissue glyceroneogenesis in rats, adapted to a high protein, carbohydrate-free diet. **Horm. Metab. Res.**, v. 27, n. 7, p. 310-313, 1995.
- BRITO, M. N.; BRITO, N. A.; MIGLIORINI, R. H. Thermogenesis capacity of Brown adipose tissue is reduced in rats fed a high protein, carbohydrate-free diet. **J. Nutr.**, v. 122, n. 1, p. 2081-2086, 1992.
- BRITO, M. N. et al. Sympathetic activity in Brown adipose tissue from rats adapted to a high protein, carbohydrate-free diet. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 69, p. 1-5, 1997.
- _____. Brown adipose tissue triacylglycerol synthesis in rats adapted to a high-protein, carbohydrate-free diet. **Am. J. Physiol.**, v. 274, n. 4, p. R1003-R1009, 1999.
- BRITO, S. C. et al. Increased glyceroneogenesis in adipose tissue from rats adapted to high-protein, carbohydrate-free diet: role of dietary fatty acids. **Metab. Clin. Exp.**, v. 53, p. 84-89, 2006.
- CADOUDAL, T. et al. Acute and selective regulation of glyceroneogenesis and cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase in adipose tissue by thiazolidiones in type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 50, p. 666-675, 2007.
- CHAVES, V. E. et al. Glyceroneogenesis is Reduced and Glucose Uptake Is Increased in Adipose Tissue from Cafeteria Diet-Fed Rats Independently of Tissue Sympathetic Innervation. **J. Nutr.**, v. 136, n. 10, p. 2475-2480, 2006.
- FESTUCCIA, W. T. L. et al. Control of glyceroneogenic activity in rat Brown adipose tissue. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 285, p. R177-R182, 2003.

- FRASSON, D. **Papel do sistema nervoso simpático no controle das vias de geração de glicerol-3-fosfato no tecido adiposo epididimal de ratos.** 2010. 135 f. Tese (Doutorado em Fisiologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.
- FOREST, C. et al. Fatty acid recycling in adipocytes: a role for glyceroneogenesis and phosphoenolpyruvate carboxykinase. **Biochem. Society Transactions**, v. 31, n. 6, p.1125–1129, 2003.
- GORIN, E.; TAL-OR, Z.; SHAFRIR, E. Glyceroneogenesis in adipose tissue of fasted, diabetic and triamcinolone treated rats. **Eur. J. Biochem.**, v. 8, n. 3, p. 370-375, 1969.
- HAHN, P.; KIRBY, L. T. The effects of catecholamines, glucagon and diet on enzyme activities in brown fat and liver of the rat. **Can. J. Biochem.**, v. 52, n. 9, p. 739-743, 1974.
- HAHN, P.; HASSANALI, S. The effect of 3,5,3'-triiodothyronine on phosphoenolpyruvate carboxykinase, fatty acid synthesis and malic enzyme activity of liver and brown fat of fetal and neonatal rats. **Biol. Neonate**, v. 41, n. 1-2, p. 1-7, 1982.
- HANSON, R. W.; BALLARD, J. F.; RESHEF, L. Glyceroneogenesis, the pathway that almost wasn't. **Biochem. Mol. Biol. Educ.**, v. 34, p. 317-323, 2006.
- HANSON, R. W.; RESHEF, L. . Glyceroneogenesis revisited. **Biochimie**, v. 85, p. 1199–1205, 2003.
- JENSEN, M. D.; EKBERG, K.; LANDAU, B.R. Lipid metabolism during fasting. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 281, n. 4, p. E789-E793, 2001.
- KALHAN, S. C. et al. Glyceroneogenesis and the source of glycerol for hepatic triacylglycerol synthesis in humans. **J. Biol. Chem.**, v. 276, n. 16, p. 12928–12931, 2001.
- KALHAN, S. C. et al. Estimates of hepatic glyceroneogenesis in type 2 diabetes mellitus in humans. **Metab. Clin. Exp.**, v. 57, p. 305–312, 2008
- KAWASHITA, N. H. et al. Glyceroquinase activity in Brown adipose tissue: a sympathetic regulation? **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 282, p. R1185–R1190, 2002.
- KHAZEN, W. et al. Acute and selective inhibition of adipocyte glyceroneogenesis and cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase by interferon δ . **Endocrinology**, v. 148, n. 8, p. 4007–4014, 2007.
- LOWELL, B. B.; SPIEGELMAN, B. M. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. **Nature**, v. 404, p. 652-660, 2000.
- MOURA, M. A. F. et al. Brown adipose tissue glyceroneogenesis is activated in rats exposed to cold. **Pflugers Arch – Eur. J. Physiol.**, v. 449, p. 463-469, 2005.
- OLSWANG, Y. et al. A mutation in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-binding site in the gene for the cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase reduces adipose tissue size and fat content in mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 99, n. 2, p. 625-630, 2002.
- RANDLE, P. J. et al. The glucose fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. **Lancet**, v. 1, n. 1, p. 785-789, 1963.
- RESHEF, L.; HANSON, R. W. Catecholamines

- and adrenal corticosteroids in the induction of P-enolpyruvate carboxykinase in rat liver and adipose tissue. **Biochem J.**, v. 127, p. 809-818, 1972.
- RESHEF, L.; HANSON, R. W.; BALLARD, F. J. Glyceride-glycerol synthesis from pyruvate. Adaptive changes in phosphoenolpyruvate carboxykinase and pyruvate carboxylase in adipose tissue and liver. **J. Biol. Chem.**, v. 244, n. 8, p. 1994-2001, 1969.
- _____. A possible physiological role for glyceroneogenesis in rat adipose tissue. **J. Biol. Chem.**, v. 245, n. 22, p. 5784-5797, 1970.
- RESHEF, L.; NIV, J.; SHAPIRO, B. Effect of proprionate on pyruvate metabolism in adipose tissue. **J. Lipid Res.**, v. 8, n. 5, p. 6886-91, 1967.
- ROBINSON, J.; NEWSHOLME, E.A. Some properties of hepatic glycerol kinase and their relation of the control of glycerol utilization. **Biochem. J.**, v. 112, n. 4, p. 455-464, 1969.
- RODEN, M. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscles. **News Physiol Sci.**, v. 19, p. 92-96, 2004.
- SANTOS, M. E. S. M. et al. Glyceroneogenesis and supply of glycerol synthesis in liver slices of fasted and diabetic rats. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 293, p. E1352-E1357, 2007.
- TONTONOZ, P. et al. PPAR gamma 2 regulates adipose expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. **Mol. Cell Biol.**, v. 15, n. 1, p. 351-357, 1995.
- TORDJMAN, J. et al. Thiazolidinediones block fatty acid release by inducing glyceroneogenesis in fat cells. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 18785-18789, 2003.
- WILDING, J. Thiazolidinediones, insulin resistance and obesity. Finding a balance. **Int. J. Clin. Pract.**, v. 60, n. 10, p. 1272-1280, 2006.

Recebido em: 28 outubro 2010

Aceito em: 29 março 2012