



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
CURSO DE BIOMEDICINA**

**STEPHANY BEATRYS BARBOSA VALENTIN**

**AÇÃO DE COMPOSTOS NUTRICIONAIS NA INDUÇÃO DA TERMOGÊNESE E  
BRONZEAMENTO DO TECIDO ADIPOSEO, POTENCIAIS TERAPÊUTICOS PARA  
OBESIDADE: UMA REVISÃO DE LITERATURA**

**Natal, RN**

**Dezembro de 2023**

STEPHANY BEATRYS BARBOSA VALENTIN

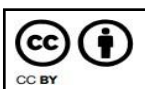
AÇÃO DE COMPOSTOS NUTRICIONAIS NA INDUÇÃO DA TERMOGÊNESE E  
BRONZEAMENTO DO TECIDO ADIPOSEO, POTENCIAIS TERAPÊUTICOS PARA  
OBESIDADE: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Monografia apresentada ao curso de graduação em Biomedicina, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Julliane Tamara Araújo de Melo Campos.

Natal, RN

Dezembro de 2023



Esta obra está licenciada com uma licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional. Permite que outros distribuam, remixem, adaptem e desenvolvam seu trabalho, mesmo comercialmente, desde que creditem a você pela criação original. Link dessa licença: [creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode)

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Sistema de Bibliotecas - SISBI

Catálogo de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - -Centro de Biociências - CB

Valentin, Stephany Beatrys Barbosa.

Ação de compostos nutricionais na indução da termogênese e bronzeamento do tecido adiposo, potenciais terapêuticos para obesidade: uma revisão de literatura / Stephany Beatrys Barbosa Valentin. - 2023.

62 f.: il.

Monografia (graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Curso de Biomedicina. Natal, RN, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Julliane Tamara Araújo de Melo Campos.

1. Termogênese - Monografia. 2. Bronzeamento do tecido adiposo - Monografia. 3. Transdiferenciação de adipócitos - Monografia. 4. Obesidade - Monografia. I. Campos, Julliane Tamara Araújo de Melo. II. Título.

STEPHANY BEATRYS BARBOSA VALENTIN

AÇÃO DE COMPOSTOS NUTRICIONAIS NA INDUÇÃO DA TERMOGÊNESE E  
BRONZEAMENTO DO TECIDO ADIPOSEO, POTENCIAIS TERAPÊUTICOS PARA  
OBESIDADE: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Monografia apresentada ao curso de graduação em Biomedicina, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 14/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Julliane Tamara Araújo de Melo Campos  
Orientadora

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE (DMOR)

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Naisandra Bezerra da Silva Farias  
Membro interno

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE (DMOR)

Dr<sup>ª</sup>. Ana Rafaela de Souza Timoteo  
Membro externo  
DNA Center

Dedico este estudo a minha filha Alice que  
é o girassol dos meus dias.

## **AGRADECIMENTOS**

As palavras fogem deliberadamente de meus lábios, e não há como descrever o significado dos momentos que vivenciei nos últimos 6 anos desse ciclo tão especial em minha vida. Dessa forma, começarei devolvendo todo mérito aquele que nunca permitiu que eu retrocedesse em minha jornada ou mesmo desistisse, meu querido pai do céu e seu amado filho Jesus, que toda honra, aplausos e glórias que eu venha a receber por esta conquista sejam direcionados aos céus.

Em seguida quero dedicar essa realização a minha sementinha de girassol, o meu solzinho do amanhecer e a impulsionadora de cada sonho que alcancei, minha filha Alice, que apesar de ter apenas 3 anos, mudou para sempre a minha rota de vida e o meu propósito de existência, a você minha querida, dedico a concretização do meu desejo de ser Biomédica. Como também, a minha amada avó Gidelia que me ensinou muitas lições valiosas ao longo da minha jornada de 25 anos, uma delas foi que o conhecimento me levaria a lugares que ela não poderia me levar, e nos dias que mais senti medo de falhar podia ouvir a sua voz ecoar dentro de mim: "tenha coragem, e seja gentil". Além disso, quero ser grata ao meu bisavô Antônio que sempre apoiou a minha vida estudantil de inúmeras formas e sei que lá do céu o senhor verá a sua bisneta ser a primeira da família a se graduar em uma instituição pública, tenho muito orgulho de carregar comigo o seu legado.

Agradeço a minha tia Giza, mais conhecida como Sirius a estrela mais brilhante do hemisfério sul, por ser a pessoa que mais me inspirou a continuar nos dias sombrios, se um dia me tornar corajosa como você, sei que o mundo se tornará pequeno para as minhas realizações e mesmo com a sua ausência deste plano, ainda te sinto comigo e sei que logo mais vamos nos reencontrar em alguma brisa do sul ou noite estrelada. E prometo que farei as pazes com o vírus que ti tirou de nós.

Em continuidade, devo graças a minha família, em particular a minha mãe, pai e irmã com quem dividi boa parte dos anos de graduação, a minha avó Raimunda por abençoar a minha vida todos os dias antes da sua partida pro céu, a minha tia Vânia que me amou desde a primeira vez que me viu e me apoia desde então. Acrescento que a jornada tripla que enfrentei nos últimos 3 anos, tralhando, estudando e sendo mãe não me levou a loucura, porque tive vocês como minha rede apoio.

Não posso esquecer de agradecer aos meus colegas de turma que contribuíram direta e indiretamente para a minha formação e crescimento pessoal,

porém, gostaria de evidenciar a Lyzandro Lucas que foi o meu fiel escudeiro em todos esses anos, que esteve ao meu lado nos momentos de alegria e nos dias difíceis, ele me compreendeu e me fez ser parte da melhor dupla de todos os tempos, devo a ele parte do que sei e da profissional que me tornarei.

Por fim, agradeço a minha orientadora Dra. Julliane que me abraçou e se propôs a ser colaboradora da finalização desta estação tão importante em minha vida. E a todos os professores, preceptores, servidores e terceirizados que foram parte dessa trilha para a conclusão do curso de Biomedicina, minha sincera gratidão.

Quando os ventos de mudança sopram, umas pessoas levantam barreiras, outras constroem moinhos de vento.

Érico Veríssimo.

## RESUMO

O tecido adiposo é composto por adipócitos brancos (WAT), adipócitos bege (BRiTE) e adipócitos marrons (BAT), que possui a função de regular os níveis energéticos do corpo humano, sendo crucial na manutenção metabólica do organismo. Isso, devido a os adipócitos brancos que armazenam energia em gotículas lipídicas e liberam na forma de ácidos graxos de acordo com a demanda metabólica. Os adipócitos bege são resultado da transdiferenciação dos adipócitos brancos adultos a partir de sinais bioquímicos que podem ser estimulados pela dieta, atividade física e exposição ao frio. Os adipócitos marrons estão em menor quantidade do corpo e em regiões específicas, tendo como principal função gerar calor por meio da termogênese ativada(TA) pela exposição ao frio. Diante disso, o tecido adiposo é um alvo para o tratamento da obesidade, pois participa diretamente no desenvolvimento dos distúrbios metabólicos. Para isso, estudos recentes abordam a ação de nutrientes da dieta que ativam a termogênese no BAT e promovem a transdiferenciação no WAT, reduzindo o impacto da obesidade.

**Palavras-chave:** Termogênese, bronzeamento do tecido adiposo, transdiferenciação de adipócitos, obesidade.

## **ABSTRACT**

Adipose tissue is composed of white adipocytes (WAT), beige adipocytes (BRITE) and brown adipocytes (BAT), which have the function of regulating the energy levels of the human body, being crucial in the metabolic maintenance of the body. This is due to white adipocytes that store energy in lipid droplets and release them in the form of fatty acids according to metabolic demand. Beige adipocytes are the result of transdifferentiation from adult white adipocytes based on biochemical signals that can be stimulated by diet, physical activity and exposure to cold. Brown adipocytes are found in smaller quantities in the body and in specific regions, their main function being to generate heat through thermogenesis activated by exposure to cold. Therefore, adipose tissue is a target for the treatment of obesity, as it directly participates in the development of metabolic disorders. To this end, recent studies address the action of dietary nutrients that activate thermogenesis in BAT and promote transdifferentiation in WAT, reducing the impact of obesity.

**Keywords:** Thermogenesis, adipose tissue tanning, adipocyte transdifferentiation, obesity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Tipos de tecidos adiposos .....	17
Figura 2 -	Mecanismos moleculares envolvidos na seleção dos tipos de adipócitos .....	18
Figura 3 -	Esquema do processo de hipertrofia e hiperplasia .....	20
Figura 4 -	Mecanismos neurais e endócrinos da termogênese ativada(TA) no tecido adiposo marrom .....	22
Figura 5 -	Vias moleculares dos miRNAs como alvo terapêutico para obesidade .....	26
Figura 6 -	Diferenciação do adipócito Bege .....	28
Figura 7 -	Modelo de resistência à insulina baseado em ATP .....	29
Figura 8 -	Ação dos receptores $\beta$ -AR .....	30
Figura 9 -	Indução da canela à termogênese .....	31
Figura 10 -	O mecanismo da termogênese desencadeado pela canela na exposição ao frio .....	32
Figura 11 -	Mecanismo de ação da berberina no processo de termogênese .....	33
Figura 12 -	O papel da cafeína na termogênese e na ingestão de energia .....	34
Figura 13 -	Mecanismo de termogênese impulsionada pela creatina .....	35
Figura 14 -	Linha do tempo de triagem de artigos .....	40
Figura 15 -	Processo de triagem bibliográfica dos artigos selecionados .....	40
Figura 16 -	Termogênese ativada pelo eixo SNS- $\beta$ AR por indução de nutrientes da dieta .....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Marcadores da termogênese .....	23
Tabela 2 - Os principais MicroRNAs envolvidos na termogênese .....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ADRB3 Receptores adrenérgicos  $\beta$ 3.
- AMPK Proteína quinase ativada por AMP.
- ATRA Ácido all-trans retinóico.
- BAT Tecido adiposo marrom.
- BRITE Tecido adiposo bege.
- BBR Berberina.
- cAMP Adenosina monofosfato cíclico.
- CE Extrato de canela.
- DIO Camundongos obesos induzidos por dieta.
- FFA Ácidos graxos livres.
- FFAR4 Receptor 4 de ácidos graxos livres.
- FGF21 Fator de crescimento de fibroblastos 21.
- IL-6 Interleucina 6.
- iWAT Tecido adiposo branco inguinal.
- mTOR Proteína alvo da rapamicina em mamíferos.
- NAFLD Doença hepática gordurosa não alcoólica.
- NST Termogênese sem tremores.
- PGC-1 $\alpha$  Coativador gama 1-alfa do receptor ativado pelo proliferador de peroxissoma.
- PPAR $\gamma$  Receptor gama ativado por proliferador.
- PUFA Ácidos graxos poli-insaturados.
- P-AMPK Fosforilação-AMPK.
- SIRT1 Sirtuína 1.
- TA Termogênese ativada.
- TRP Potencial de receptor transitório.
- TRPV Receptor de potencial transitório vanilóide.
- UCP1 Proteína desacopladora 1.
- WAT Tecido adiposo branco.

## **LISTA DE SIGLAS**

OMS Organização mundial de saúde.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1 O Tecido adiposo: Importância e estrutura .....	16
1.2 Os tipos de tecido adiposo.....	17
1.3 Termogênese .....	21
1.3.1 Diferença entre termogênese adaptativa e ativada .....	21
1.3.2 Marcadores da termogênese .....	22
1.4 MicroRNAs mediadores da termogênese .....	25
1.5 Bronzeamento do tecido adiposo .....	27
1.6 Mecanismos da obesidade .....	28
1.7 Intervenção nutricional na obesidade .....	30
1.7.1 Cinnamomum cassia.....	31
1.7.2 Berberina.....	32
1.7.3 Cafeína .....	33
1.7.4 Creatina.....	34
1.8 Justificativa.....	37
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>38</b>
2.1 Objetivo geral .....	38
2.2 Objetivo específico .....	38
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>41</b>
4.1 Obesidade e termogênese .....	41
4.2 Intervenção nutricional de termogênicos .....	43
4.2.1 <i>Cinnamomum cassia</i> .....	43
4.2.2 Berberina.....	45
4.2.3 Cafeína .....	53
4.2.4 Creatina.....	54
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>60</b>

## 1. INTRODUÇÃO

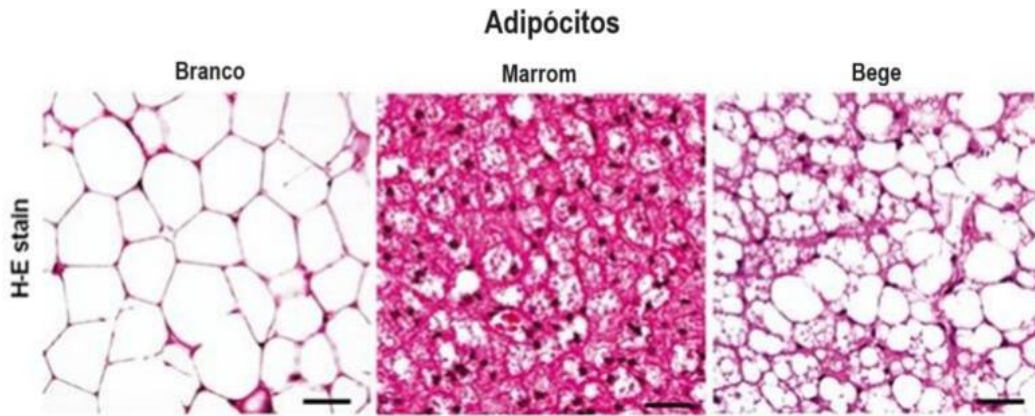
### 1.1 O Tecido adiposo: Importância e estrutura

O tecido adiposo é um tipo de tecido conjuntivo especializado encontrado no corpo humano e em outros animais. Ele desempenha um papel crucial no armazenamento e no metabolismo de energia, além de desempenhar funções importantes no isolamento térmico e na proteção dos órgãos do organismo. É composto por células chamadas adipócitos, cuja principal função é o armazenamento de gordura na forma de triglicerídeos (WANG; XU; LI, 2022).

Além disso, ele é originário de células-tronco mesenquimais, que são células indiferenciadas presentes no mesoderma. Essas células-tronco mesenquimais têm a capacidade de se diferenciar em diversos tipos de células, incluindo adipócitos, que são as células especializadas no armazenamento de gordura. Durante o desenvolvimento embrionário, as células-tronco mesenquimais se diferenciam em precursores de adipócitos, que, por sua vez, se transformam em adipócitos maduros (KURYŁOWICZ; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, 2020a).

Os adipócitos contêm uma grande quantidade de vacúolos lipídicos, que armazenam os triglicerídeos. Quando o corpo precisa de energia, esses triglicerídeos são liberados dos adipócitos e quebrados em gorduras, que são então metabolizados para produzir energia. Além do seu papel no armazenamento e liberação de energia, o tecido adiposo também produz e secreta hormônios importantes, como a leptina, que regula o apetite e o metabolismo, e a adiponectina, que está sob a regulação da sensibilidade à insulina e do metabolismo lipídico. Esses hormônios desempenham um papel fundamental na regulação do equilíbrio energético e no metabolismo do organismo (CHEONG; XU, 2021).

**Figura 1:** Cortes histológicos dos tipos de tecidos adiposos.



Legenda:

Branco - Tecido adiposo branco; Marrom - Tecido adiposo marrom; Bege - Tecido adiposo bege.

Fonte: Adaptada de *Browning of white adipose tissue: Lessons from experimental models*, Bargut et al., (2017).

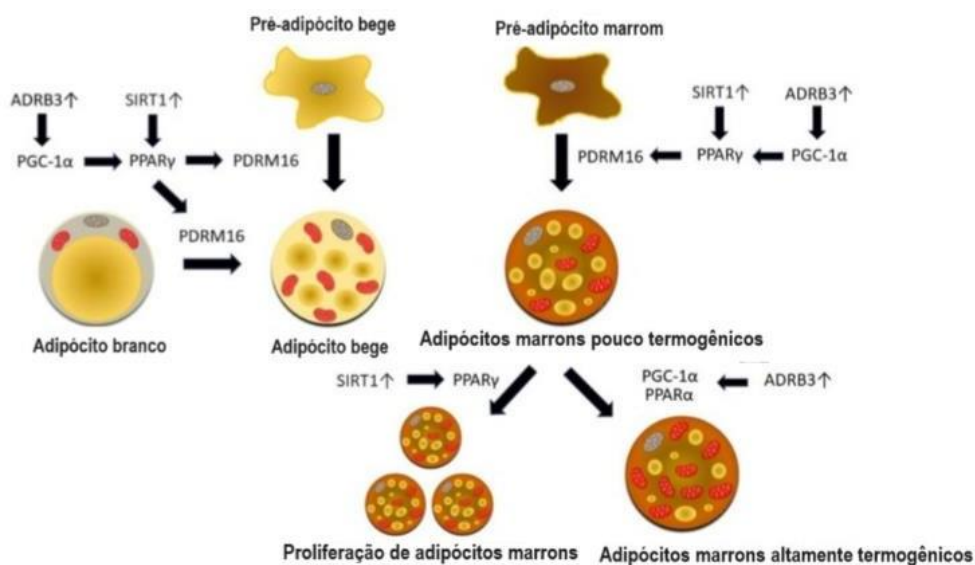
## 1.2 Os tipos de tecido adiposo

É importante notar que existem diferentes tipos de tecido adiposo, incluindo o tecido adiposo branco e o tecido adiposo marrom, e a diferenciação de adipócitos pode seguir caminhos diferentes, dependendo dos sinais e estímulos hormonais presentes durante o desenvolvimento embrionário e a vida adulta (KURYŁOWICZ; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, 2020a).

Existem dois tipos principais de tecido adiposo: o tecido adiposo branco e o tecido adiposo marrom. O tecido adiposo branco é o tipo mais comum e está envolvido principalmente no armazenamento de energia e pode ser subdividido em subcutâneo e visceral, que está localizado na região abdominal, em torno dos órgãos internos. O tecido adiposo visceral é geralmente associado a um maior risco de desenvolvimento de doenças metabólicas, como obesidade, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares. Já o tecido adiposo marrom é encontrado principalmente em recém-nascidos e em menor proporção nos adultos. Ele é especializado em produzir calor através da queima de gordura, sendo importante para a regulação da temperatura corporal (SUCHACKI; STIMSON, 2021).

Dessa forma, os adipócitos podem ter a sua origem de células progenitoras ou por meio da transdiferenciação de adipócitos brancos em bege ou marrom, esse processo é chamado de bronzeamento ou escurecimento do tecido adiposo, e ele pode ser iniciado em resposta a exposição ao frio ou intervenções na dieta. Portanto, alguns mecanismos moleculares estão relacionados a diferenciação e seleção dos tipos de adipócitos, sendo no escurecimento do tecido adiposo branco e na ativação do tecido adiposo marrom que são considerados alvos terapêuticos em potencial para doenças como a obesidade e diabetes. Incluído a esses mecanismos temos os receptores adrenérgicos  $\beta_3$  (ADRB3) que inicia as vias da termogênese, levando à indução do coativador 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) do receptor gama ativado por proliferador (PPAR $\gamma$ ) e do PPAR $\gamma$ , como também, a Sirtuína 1 (SIRT1) ativa o PPAR $\gamma$  e permite o recrutamento do fator de transcrição PRDM16 e o início da diferenciação do adipócito marrom. Esses fatores são responsáveis por regular os progenitores que vão dar origem aos adipócitos brancos, bege e marrom (KURYŁOWICZ; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, 2020a).

**Figura 2:** Mecanismos moleculares selecionados envolvidos no escurecimento do tecido adiposo branco e na ativação do tecido adiposo marrom que poderiam constituir potenciais alvos terapêuticos para o tratamento da obesidade.



Legenda:

Beige preadipocyte: Pré adipócito bege; Brown preadipocyte: Pré adipócito marrom;

White adipocyte: Adipócito branco; Beige adipocyte: Adipócito bege; low-thermogenic brown adipocyte: adipócitos marrons pouco termogênicos; Brown adipocyte proliferation: Proliferação de adipócitos marrons; High-thermogenic brown adipocyte: adipócitos marrons altamente termogênicos.

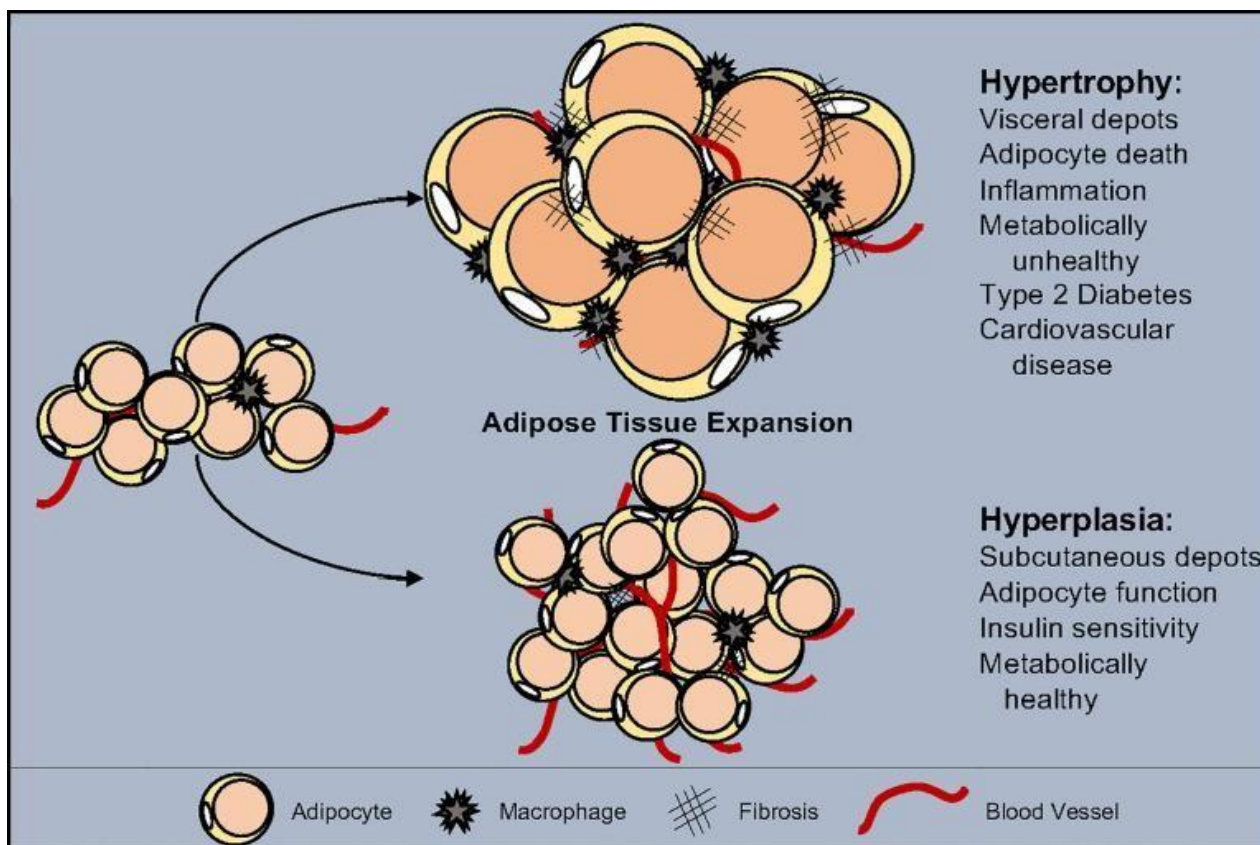
ADRB3A: receptores adrenérgicos  $\beta$ 3; PGC-1 $\alpha$ : coativador gama 1-alfa do receptor ativado pelo proliferador de peroxissoma; PPAR $\gamma$ : receptor gama ativado por proliferador; SIRT1: Sirtuína 1; PRDM16: Fator de transcrição do domínio PR 16.

Fonte: Adaptada de *Induction of Adipose Tissue Browning as a Strategy to Combat Obesity*. (KURYŁOWICZ; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, 2020a).

Além disso, o tecido adiposo marrom (BAT) é apontado como principal responsável pela termogênese sem tremores (NST) quando o indivíduo é exposto ao frio, acionando os canais de cátions não seletivos (TRP), permeáveis ao  $Ca^{2+}$ , responsáveis por sinalizar informações de temperatura, osmolaridade e sensitivas. Os TRP'S ativam os neurônios sensoriais que se comunicam com os nervos simpáticos para estimular a liberação de noradrenalina resultando em eventos intracelulares impulsionados pela adenosina monofosfato (cAMP), destacando a quebra de triglicerídeos, oxidação de ácidos graxos e ativação da proteína desacopladora (UCP1) presença nas mitocôndrias, conhecida como molécula essencial para a termogênese (SAITO et al., 2020). Contudo a proporção do tecido adiposo marrom na idade adulta é reduzida, estando presente nas regiões: cervico-supraclavicular, peri/suprarenal e paravertebral, ao redor dos vasos principais, no pescoço e no mediastino com a função principal de gerar calor para manter a temperatura central. Essa redução do BAT com o crescimento do indivíduo ocorre, pois ele desempenha um papel importante na termorregulação, ajudando a manter a temperatura corporal em condições de frio, sendo os bebês e crianças aqueles com maior necessidade de gerar calor, uma vez que têm uma relação de área de superfície corporal maior em comparação com o volume, o que faz com que percam calor mais rapidamente. Portanto, eles têm mais tecido adiposo marrom para auxiliar na produção de calor. Além do fator de termorregulação, existem outros que influenciam na quantidade do BAT no decorrer dos anos, como: mudanças nos padrões metabólicos, direcionamento de energia para outras atividades, necessidade de armazenamento energético por meio do tecido adiposo branco para suprir as demandas do desenvolvimento do corpo e a realização de atividades laborais (KURYŁOWICZ; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, 2020a).

Enquanto que o tecido adiposo branco (WAT) desempenha a função principal de armazenamento energético, ele também funciona como o maior órgão endócrino secretando a leptina, adiponectina, resistina e moléculas bioativas como fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6), microRNAs entre outros. A liberação dessas substâncias ajuda a regular o metabolismo dos nutrientes do organismo, o desequilíbrio deles leva a hipertrofia e hipertrofia dos adipócitos, comum em indivíduos com obesidade, recrutando e ativando células da imunidade inata, macrófagos, células NK, como também, o sistema complemento, resultando em um infiltrado inflamatório crônico (WANG; XU; LI, 2022). Ademais, O WAT pode se expandir através de dois mecanismos, a hipertrofia em que os adipócitos aumentam de tamanho e a hiperplasia onde ocorre um aumento na quantidade de adipócitos. Além disso, em paralelo a hipertrofia, acontece a redução da vascularização, elevação da inflamação que promove a fibrose, enquanto que na hiperplasia é possível a manutenção da circulação sanguínea no tecido que previne processos inflamatórios e fibrose (STEINER; BERRY, 2022).

**Figura 3:** Esquema do processo de hipertrofia e hiperplasia.



Legenda:

Hypertrophy: Hipertrofia; Hyperplasia: Hiperplasia; Adipose tissue expansion: Expansão do tecido adiposo; Adipocyte: Adipócito; Macrophage: Macrófago; Fibrosis: Fibrose; Blood vessel: Vaso sanguíneo.

Fonte: Adaptado de *The Regulation of Adipose Tissue Health by Estrogens* (STEINER; BERRY, 2022).

### 1.3 Termogênese

#### 1.3.1 Diferença entre termogênese adaptativa e ativada

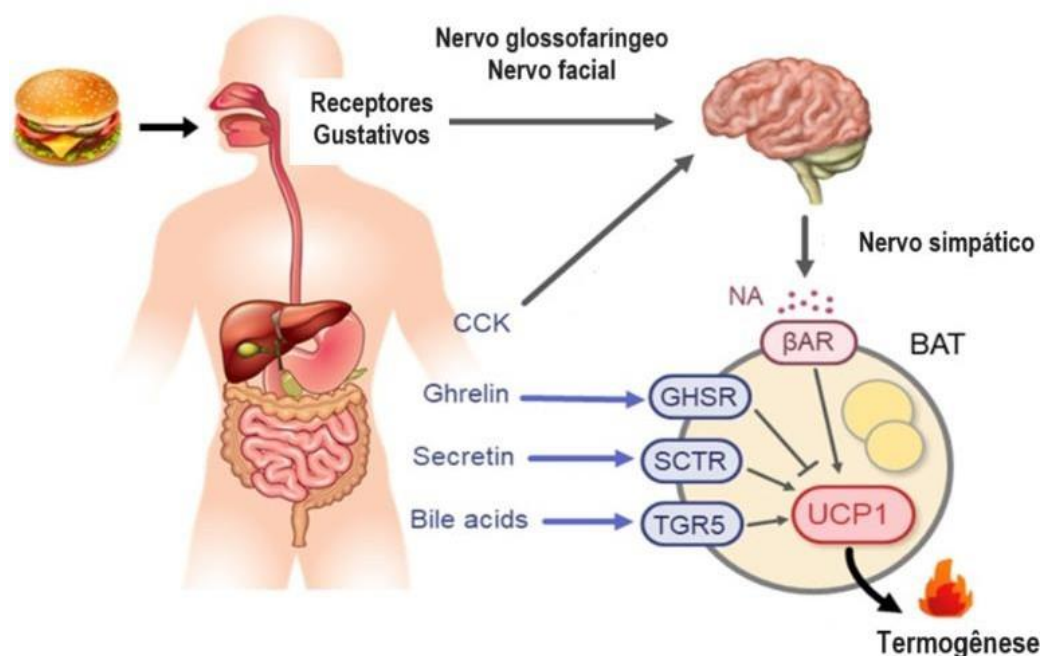
A termogênese adaptativa e a termogênese ativada (TA) são dois processos físicos relacionados ao controle da temperatura corporal e ao gasto energético. Ambos processos estão envolvidos no aumento da produção de calor no corpo humano, mas possuem diferenças quanto ao fator de estímulo, a termogênese adaptativa ocorre durante uma exposição ao frio, enquanto a TA é induzida pelo hormônio T3 em condições termoneutras e componentes da dieta (YAU; YEN, 2020).

Desse modo, podemos definir a termogênese adaptativa como a redução do metabolismo basal do indivíduo em que ocorre perda de peso em resposta a estímulos extremos, sendo as baixas temperaturas o principal. Além disso, o tecido adiposo marrom é o local onde ocorre a termogênese adaptativa, pois ele possui um alto potencial de geração de calor, que acontece através da ativação da proteína desacopladora (UCP1) presente nas mitocôndrias que são abundantes em adipócitos marrons (NEDERGAARD; VON ESSEN; CANNON, 2023). Em decorrência, o processo de ativação da proteína UCP1 pode ter estímulos sensoriais ou de hormônios adrenérgicos, ela está localizada na membrana interna das mitocôndrias e é um desacoplador que permite que prótons retornem para a matriz mitocondrial sem gasto de ATP, resultando em uma energia que é dissipada em forma de calor sem a necessidade de produzir ATP, esse processo é denominado de termogênese. Além disso, a lipólise e oxidação de ácidos graxos são mecanismos importantes que fornecem substrato para que a termogênese ocorra, como também o transporte de elétrons da cadeia respiratória que gera um gradiente de íons H<sup>+</sup> através da membrana interna mitocondrial (XIAOXIANG MAO *et al.*, 2020).

Por outro lado, a TA refere-se a um aumento na produção de calor no corpo, geralmente em resposta a estímulos como exercício físico, alimentação ou fatores ambientais temporários. O processo que desencadeia a TA envolve o aumento da atividade metabólica das células que resulta numa maior produção

de ATP, como também a glicólise que decompõe a glicose, e a oxidação de ácidos graxos. Ademais, os músculos desempenham função nessa demanda, contraindo durante o exercício, a energia é liberada e parte dela é dissipada em forma de calor, aumentando o consumo de oxigênio, levando a um aumento no metabolismo e em resposta ao frio, o SNS é ativado, isso resulta na liberação de neurotransmissores, como a noradrenalina, que se ligam aos receptores adrenérgicos em tecidos específicos, como o adiposo e o muscular (SAITO *et al.*, 2020).

**Figura 4:** Mecanismos neurais e endócrinos da termogênese ativada (TA) no tecido adiposo marrom.



Legenda:

βAR - receptor β-adrenérgico; Bile acids - ácidos biliares; BAT - tecido adiposo marrom; CCK - colecistocinina; GHSR - receptor de grelina; NA - noradrenalina; SCTR - receptor de secretina; TGR5 - receptor ativado por ácido biliar acoplado à proteína G; UCP1 - proteína desacopladora 1.

Fonte: Adaptada de *Brown Adipose Tissue, Diet-Induced Thermogenesis, and Thermogenic Food Ingredients: From Mice to Men. Front Endocrinol (Lausanne)* (SAITO *et al.*, 2020)

### 1.3.2 Marcadores da termogênese

A termogênese é um processo em que o organismo produz calor, sendo imprescindível para a regulação da temperatura corporal, como também no

gasto energético. ela pode ocorrer de duas maneiras: a termogênese canônica e a termogênese não-canônica. A termogênese canônica acontece principalmente no BAT e é controlada pelo sistema nervoso simpático, sendo ativada em condições de frio intenso. Enquanto que, a termogênese não-canônica é um termo mais abrangente que se refere a qualquer forma de produção de calor em outros tipos de adipócitos, que geralmente é acionada por exercícios, ingestão de alimentos, resposta inflamatória, estresse, entre outros. Por fim, a diferença entre elas se dá devido os locais onde acontecem e os dispositivos ativadores da produção de calor (AQUILANO *et al.*, 2020).

**Tabela 1:** Marcadores da termogênese.

Tipo de adipócito	Gene expresso	Nome completo	Função biológica
<b>Adipócito marrom e bege clássico</b>	<i>UCP1</i>	Proteína desacopladora 1	Separar a fosforilação oxidativa da síntese de ATP com energia dissipada como calor, também conhecida como vazamento de prótons mitocondriais
	<i>PGC1A</i>	Co-ativador gama 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissomo	Coativador transcricional envolvido na regulação de genes relacionados ao metabolismo energético
	<i>PRMD16</i>	Domínio PR contendo a proteína 16	Co-ativador transcricional envolvido na diferenciação de adipócitos marrom e bege
	<i>CIDEA</i>	Efator A do tipo DFFA indutor de morte celular	Ativador de apoptose por fragmentação de DNA; desempenha um papel na termogênese e lipólise
	<i>DIO2</i>	A desiodinase iodotironina do tipo II	Conversão de tiroxina (T4) em 3,3', 5-triiodotironina (T3)
	<i>EPSTIL1</i>	Interação epitelial-estromal 1	Interage com a valosina que contém o produto gênico proteico, resultando na translocação nuclear do produto gênico da subunidade 1 do fator nuclear kappa e

			ativação dos genes alvo
<b>Seletivo para adipócito marrom clássico</b>	<i>ZIC1</i>	Membro da família Zic1	Fator de transcrição multifuncional para o indicador de zinco tipo C2H2
	<i>EVA1</i>	Antígeno epitelial tipo V	Participação nas fases iniciais da organogênese do timo
	<i>EBF3</i>	Fator 3 de células B precoces	Envolvido na diferenciação de células B, desenvolvimento ósseo e neurogênese
	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 1	Fator de transcrição para indicador com zinco duplo rico em cestina
	<i>MIR-206</i>	MicroRNA 206	Inibição dos fatores de transcrição muscular miogenina e MyoD em adipócitos marrons
	<i>MIR-133B</i>	MicroRNA 133b	miRNA-206
<b>Seletivo para adipócito bege</b>	<i>TBX1</i>	Tbox-1	Fator de transcrição associado à caixa T, envolvido na regulação de processos de desenvolvimento
	<i>TMEM26</i>	Proteína transmembranar 26	Desconhecido
	<i>CD137</i>	Superfamília de receptores de fator de necrose tumoral, membro 9	Expansão clonal, sobrevivência e desenvolvimento de células T, proliferação de monócitos, indução de um perfil Th1
	<i>CITED1</i>	Transativador com interação Cbp / p300, com domínio carboxi-terminal rico em Glu/Asp, 1	Coativador transcricional e pode desempenhar um papel na pigmentação de melanócitos
	<i>SHOX2</i>	Homeobox de baixa estatura 2	Fator de transcrição de ligação ao DNA contendo

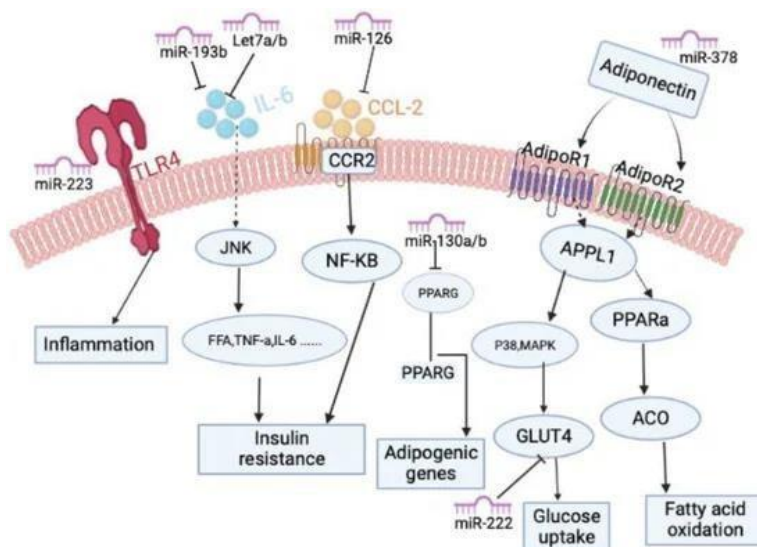
			homeodomínio, envolvido na formação de padrões nas espécies de invertebrados e vertebrados
	<i>HOXC9</i>	Homeobox C9	A proteína de ligação ao DNA contendo homeodomínio desempenha um papel importante na morfogênese em todos os organismos multicelulares
<b>Adipócito branco</b>	<i>LEP</i>	Leptina	Hormônio que regula a ingestão de alimentos e o gasto de energia
	<i>HOXC8</i>	Homeobox C8	Veja Hoxc9
	<i>TCF21</i>	Fator de transcrição 21	Envolvidos em interações epiteliais-mesenquimais na morfogênese renal e pulmonar

Fonte: Adaptada de *Understanding the Biology of Thermogenic Fat: Is Browning A New Approach to the Treatment of Obesity?* (VARGAS-CASTILLO et al., 2017).

#### 1.4 MicroRNAs mediadores da termogênese

Os microRNAs (miRNAs) podem ser definidos como moléculas de RNA não codificantes conservadas que atuam na regulação da expressão gênica. Além disso, houve uma descoberta recente que aponta os miRNAs como atores diretos e indiretos nas funções do tecido adiposo, atuando desde o processo de formação e metabolismo dos adipócitos, ativando fatores de transcrição e proteínas, tornando-se um alvo de estudo promissor para compreender os distúrbios metabólicos como a obesidade (MA *et al.*, 2022).

**Figura 5:** Vias moleculares dos miRNAs como alvo terapêutico para obesidade.



Legenda:

Adiponectin - Adiponectina; Inflammation - Inflamação; Insulin resistance - Resistência a insulina; Fatty acid oxidation - Oxidação de ácidos graxos; Glucose uptake - Absorção de glicose.

Fonte: *MicroRNAs as Mediators of Adipose Thermogenesis and Potential Therapeutic Targets for Obesity* (MA et al., 2022).

**Tabela 2:** Os principais MicroRNAs envolvidos na termogênese.

MicroRNAs	Local de expressão	Função	Via metabólica	Fatores de Ativação
miR-30b/c	BAT	Atua no desenvolvimento de adipócitos marrons	Adipogênese	Exposição ao frio
miR-32	Múltiplos tecidos	Regulador da termogênese no BAT	Termogênese	Exposição ao frio
miR-455	BAT	Atua na diferenciação dos adipócitos marrons	Adipogênese	Exposição ao frio
miR-203	Tecido epitelial	Regular o desenvolvimento de adipócitos marrons	Adipogênese	Exposição ao frio
miR-182-5p	Tecido adiposo	Biogênese mitocondrial atuando na transdiferenciação de adipócitos bege	Termogênese	Exposição ao frio

Fonte: Elaboração do autor a partir de dados do estudo *MicroRNAs as Mediators of Adipose Thermogenesis and Potential Therapeutic Targets for Obesity* (MA et al., 2022)

## 1.5 Bronzeamento do tecido adiposo

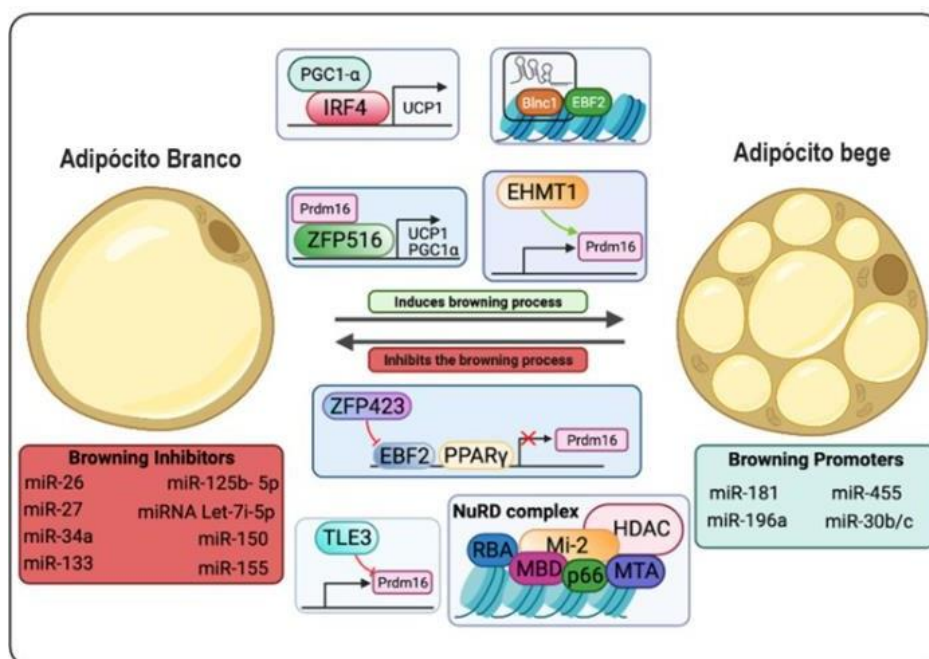
A obesidade é um desequilíbrio entre a quantidade de gordura armazenada nos adipócitos e o consumo energético do indivíduo que se relaciona com a homeostase do tecido adiposo, no qual podemos observar a redução de adipócitos marrons e ou perda de função. A partir desses achados, surgiu o interesse de estudar o escurecimento do WAT que tem a participação de alguns fatores de transcrição, (ZHONG *et al.*, 2023).

Dessa forma, o processo de bronzeamento do tecido adiposo ocorre a partir da transdiferenciação do adipócito branco em bege e ou de progenitores mesodérmicos derivados de células-tronco pluripotentes, apesar das semelhanças morfológicas com os adipócitos marrons, como a expressão de *UCP1*, os adipócitos beges se localizam no tecido subcutâneo e é gerado dos progenitores da linhagem não-Myf5, células musculares que não expressam o *gene Myf5*, assim como o WAT (VARGAS-CASTILLO *et al.*, 2017).

Os principais determinantes moleculares da formação do tecido adiposo bege (BRITE) são o receptor  $\gamma$  ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR $\gamma$ ), coativador gama 1 $\alpha$  do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PGC1 $\alpha$ ), domínio PR contendo 16 (PRDM16), CD137, proteína transmembrana 26 (TMEM26), T-box 1 (TBX1), efetor tipo indutor de morte celular (CIDEA) e transativador que interage com cbp/p300 com domínio 1 carboxi-terminal rico em glu/asp (CITED1) (VARGAS-CASTILLO *et al.*, 2017).

Além disso, o escurecimento do WAT passa por uma regulação de transcricional que envolve proteínas e genes específicos, enquanto que os fatores PGC-1 $\alpha$ , IRF4, PRDM16, ZFP516, EHMT1 e RNAs vão estimular a capacidade oxidativa, à biogênese mitocondrial e à termogênese sem tremores, os fatores TLE3, ZFP423 e o complexo NuRD irão inibir esse processo, favorecendo a adipogênese e diferenciação de adipócitos brancos (MACHADO *et al.*, 2022).

**Figura 6:** Diferenciação do adipócito Bege.



Legenda:

A regulação transcricional do processo WAT envolve a ação de uma infinidade de proteínas e ácidos nucleicos específicos. Esta orquestra de fatores de ação trans modula genes associados à capacidade oxidativa, à biogênese mitocondrial e à termogênese sem tremores. Enquanto a ação de alguns fatores, como PGC-1 $\alpha$ , IRF4, PRDM16, ZFP516, EHMT1 e RNAs, lida com o escurecimento do WAT, TLE3, ZFP423 e o complexo NuRD, outro conjunto de RNAs e outros inibem esse processo, favorecendo a adipogênese e diferenciação de adipócitos brancos.

Fonte: Adaptada de *Browning of the white adipose tissue regulation: new insights into nutritional and metabolic relevance in health and diseases* (MACHADO *et al.*, 2022).

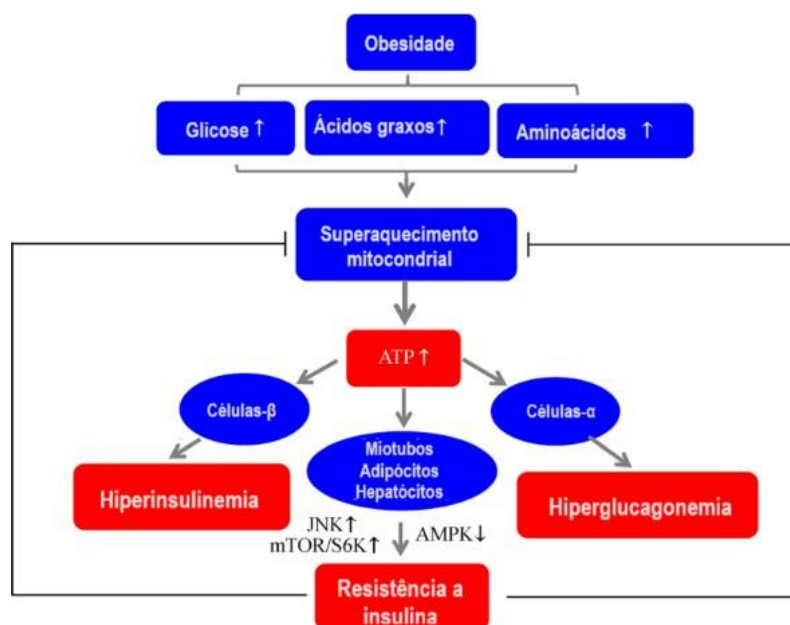
## 1.6 Mecanismos da obesidade

A obesidade é uma condição complexa influenciada por uma interação de fatores genéticos, ambientais, comportamentais e metabólicos. Os mecanismos bioquímicos da obesidade envolvem uma série de processos fisiológicos que afetam o equilíbrio entre a ingestão de energia (alimentação) e o gasto de energia (metabolismo e atividade física). Esses processos são: a resistência à Insulina, uma característica comum na obesidade, que ocorre quando as células respondem de maneira reduzida à insulina, levando a níveis elevados de glicose no sangue, contribuindo para o armazenamento excessivo de gordura (YE, 2021). Além disso, temos a influência do hormônio da leptina que é produzido pelos adipócitos participando da regulação do apetite e gasto energético, e na maioria dos casos de sobre peso ocorre a resistência a leptina em que o corpo

não responde aos estímulos, perdendo o controle da ingestão alimentar (IZQUIERDO *et al.*, 2019). Ademais a obesidade está associada um estado inflamatório crônico de baixo grau, em que os adipócitos liberam substâncias pró-inflamatórias, como citocinas, que podem contribuir para a resistência à insulina e outros problemas metabólicos. Como também a desregulação do sistema endocanabinoide que regula a ingestão alimentar, o metabolismo e o armazenamento de energia, levando ao aumento do apetite e ao armazenamento de gordura (SAAD; SANTOS; PRADA, 2016).

É importante destacar que esses mecanismos não atuam isoladamente, mas interagem de maneira complexa. Além disso, a abordagem para compreender a obesidade deve considerar fatores comportamentais, ambientais e sociais. O tratamento eficaz da obesidade muitas vezes envolve uma abordagem multidisciplinar que inclui mudanças na dieta, aumento da atividade física, intervenções comportamentais e, em alguns casos, intervenções farmacológicas (IZQUIERDO *et al.*, 2019).

**Figura 7:** Modelo de resistência à insulina baseado em ATP.



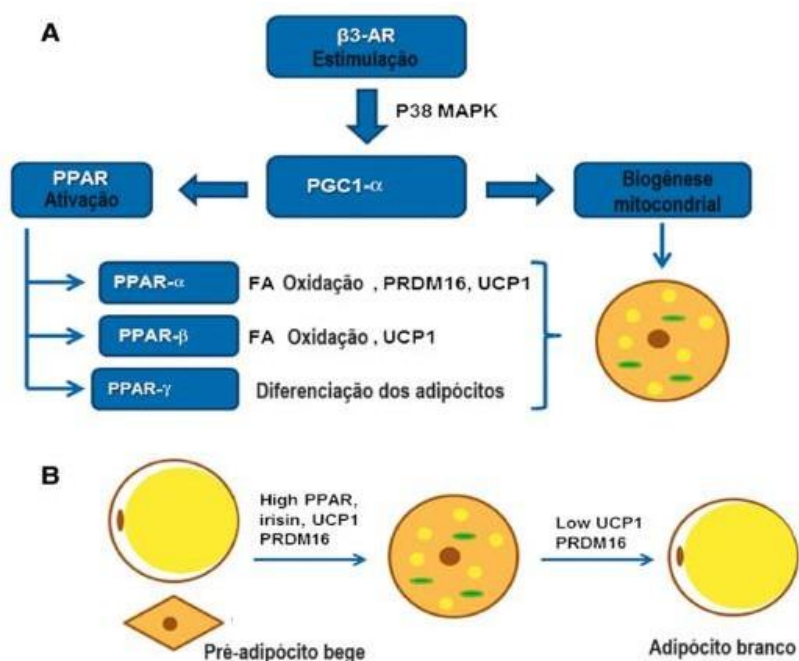
Fonte: Adaptada de *Mechanism of insulin resistance in obesity: a role of ATP* (YE, 2021).

## 1.7 Intervenção nutricional na obesidade

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) a obesidade é o excesso de gordura corporal, em quantidade que resulta em prejuízos à saúde. Essa condição de saúde se tornou uma preocupação global e pode resultar em problemas secundários, como: diabetes do tipo 2, doenças cardiovasculares, hipertensão, apneia do sono, depressão e ansiedade devido a estigmas sociais. Dessa forma, o tecido adiposo se tornou um alvo de estudo para encontrar potenciais terapêuticos para os distúrbios metabólicos envolvendo a obesidade, começando pelo entendimento da capacidade de transdiferenciação dos adipócitos brancos em bege e marrom (SHANKAR *et al.*, 2019).

O BAT é um alvo para melhorias da homeostase metabólica na vida adulta, mesmo que nessa fase aconteça uma diminuição na quantidade de adipócitos marrons, devido a facilidade de ativação por meio da alimentação ou condições de baixa temperatura. Sendo assim, sugere-se que exposição crônica ao frio e à ingestão de alimentos, como canela, ômega 3, berberina, cafeína e creatina, ativam a termogênese liberando catecolaminas do sistema nervoso central(SNC) que se ligam ao  $\beta$ -AR, iniciando assim uma cascata de sinalização (BARGUT *et al.*, 2017).

**Figura 8:** Ação dos receptores  $\beta$ -AR.



Legenda:

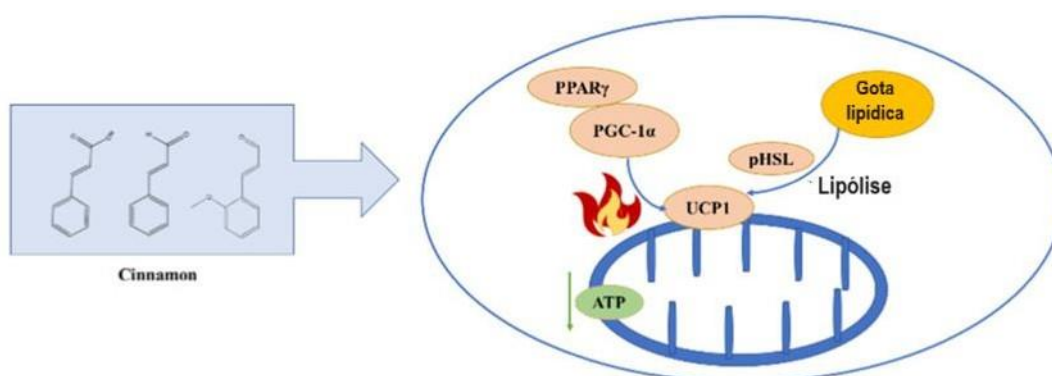
A - A estimulação do receptor beta 3-adrenérgico leva à indução de PGC1, que impulsiona a ativação do PPAR e a biogênese mitocondrial. Esses estímulos permitem que o adipócito branco adquira características de adipócitos marrons em um evento denominado “escurecimento”, onde a expressão aumentada de PRDM16 e UCP1 é considerada como marca registrada da atividade termogênica no novo adipócito bege/brite. B - Uma interação entre PPAR- $\alpha$  e irisina estimula o escurecimento, pois favorece grandes expressões de UCP1 e PRDM16. Por outro lado, sob expressão reduzida de PRDM16 e UCP1, o adipócito brite pode se transformar em um adipócito branco, mostrando a natureza reversível do fenômeno de escurecimento.

Fonte: Adaptada de *Browning of white adipose tissue: lessons from experimental models* (BARGUT et al., 2017).

### 1.7.1 *Cinnamomum cassia*

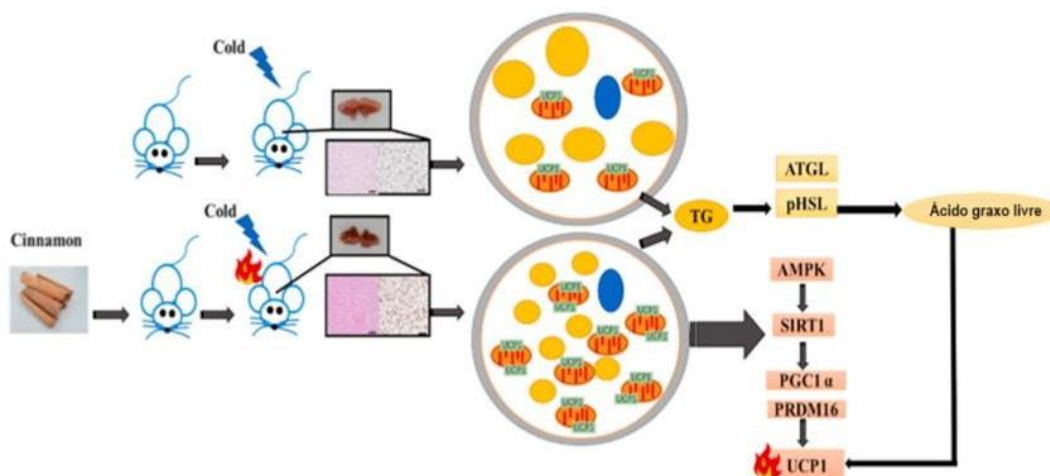
A *Cinnamomum cassia* (canela) uma erva da medicina tradicional chinesa, sempre foi conhecida por seu efeito termogênico, mas os reais mecanismos do seu extrato responsáveis por dissipar o frio permaneceram desconhecidos por bastante tempo. O interesse no extrato de canela está em muitos manuscritos de antigas civilizações chinesas, sendo descrito como um potencial de dissipar o frio e aumentar a circulação sanguínea (LI *et al.*, 2021). Dessa forma, quando a temperatura corporal é inferior a 35°C o organismo começa a gerar calor a fim de dissipar o frio, usando aNST induzindo a proteína UCP1 a ativar o processo de termogênese no BAT.

**Figura 9:** Indução da canela à termogênese.



Fonte: Adaptada de *Network pharmacology-based research uncovers cold resistance and thermogenesis mechanism of *Cinnamomum cassia** (LI *et al.*, 2021).

**Figura 10:** O mecanismo da termogênese desencadeado pela canela na exposição ao frio.



Legenda:

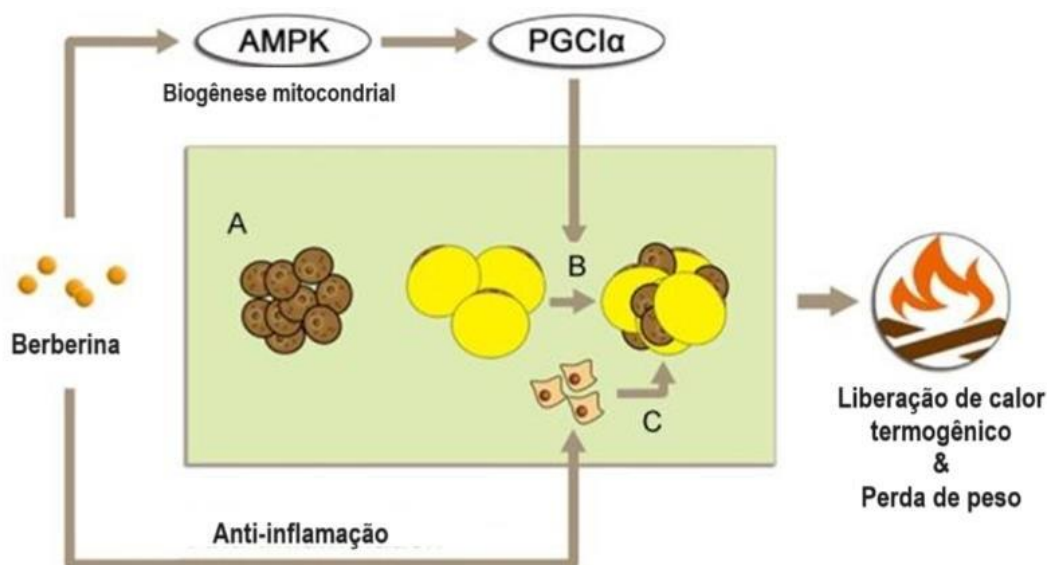
AMPK, proteína quinase ativada por AMP; pHSL, lipase sensível ao hormônio fosforilado; SIRT1, sirtuína 1; TG, triglicerídeos; UCP1, proteína desacopladora 1.

Fonte: Adaptada de *Cinnamomum cassia extract promotes thermogenesis during exposure to cold via activation of brown adipose tissue* (XIANG-LI *et al.*, 2021).

### 1.7.2 Berberina

A berberina pode ser extraída de uma variedade de plantas como: *Rhizoma Coptidis*, *Hydrastis canadensis*, *Berberis vulgaris* entre outras. Ela é comumente usada como antidiarreica e também exerce efeitos antidiabéticos e anti-hiperlipidêmicos em humanos, por meio da sua ação termogênica no BAT e inibição da adipogênese, descoberta recente. Referência? Dessa forma, o organismo pode responder de três formas: transdiferenciação de adipócitos brancos maduros para adipócitos bege, ativação da via de sinalização AMPK/PGC1 $\alpha$  e a formação de adipócitos bege a partir de células progenitoras audiogênicas (Hu X, 2018).

**Figura 11:** Mecanismo de ação da berberina no processo de termogênese.



Legenda:

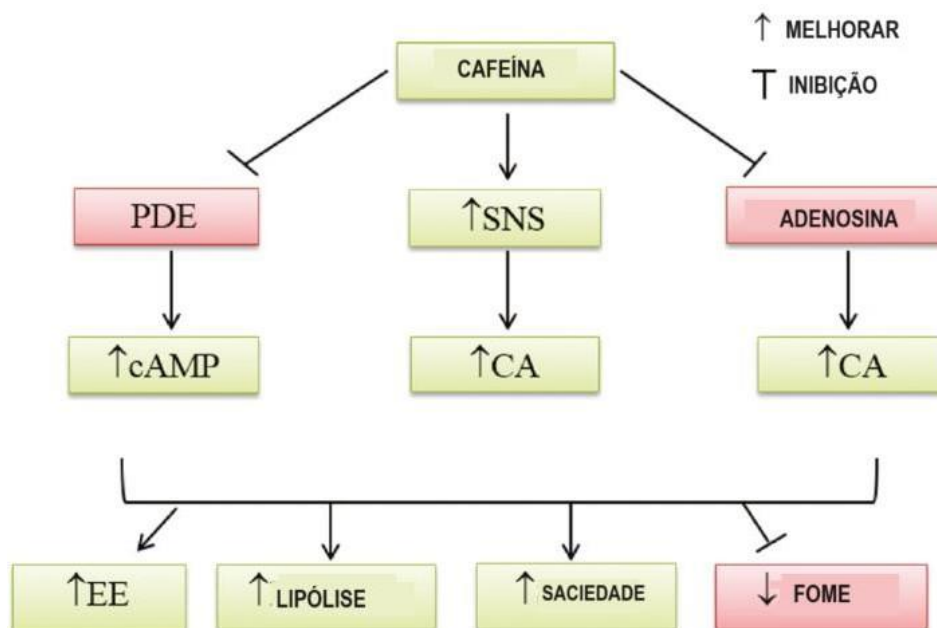
Três respostas metabólicas podem ocorrer após estímulos termogênicos. A - Aumento da atividade BAT em adipócitos marrons clássicos pré-existentes; B - A mudança metabólica de adipócitos brancos existentes para adipócitos bege na gordura subcutânea (conversão de tecido adiposo branco em marrom); A berberina ativa esta conversão via sinalização AMPK/PGC1 $\alpha$ ; C - Nova formação de adipócitos bege a partir de células progenitoras adipogênicas.

Fonte: Adaptada de *Berberine is a potential therapeutic agent for metabolic syndrome via brown adipose tissue activation and metabolism regulation*. Hu X, 2018.

### 1.7.3 Cafeína

A cafeína é um alcalóide vegetal encontrado principalmente nos grãos de café, consumida com bastante frequência em muitas culturas, com associação à perda de peso e gasto energético, melhorias no humor, estímulo do raciocínio, memória e diminuição da sonolência, sendo recomendado o consumo moderado da substância, pois em excesso pode causar efeitos adversos, como: arritmia, ansiedade e dependência. No estudo revisado, o enfoque será no potencial de regulação positiva da UCP1 no BAT, em que vamos saber um pouco mais sobre a indução do aumento de UCP1 nos adipócitos marrons (Velickovic K, 2019).

**Figura 12:** O papel da cafeína na termogênese e na ingestão de energia.



Legenda:

PDE - fósforo-diesterase; SNS - sistema nervoso simpático; cAMP - adenosina monofosfato cíclico; CA - catecolaminas; EE - gasto energético.

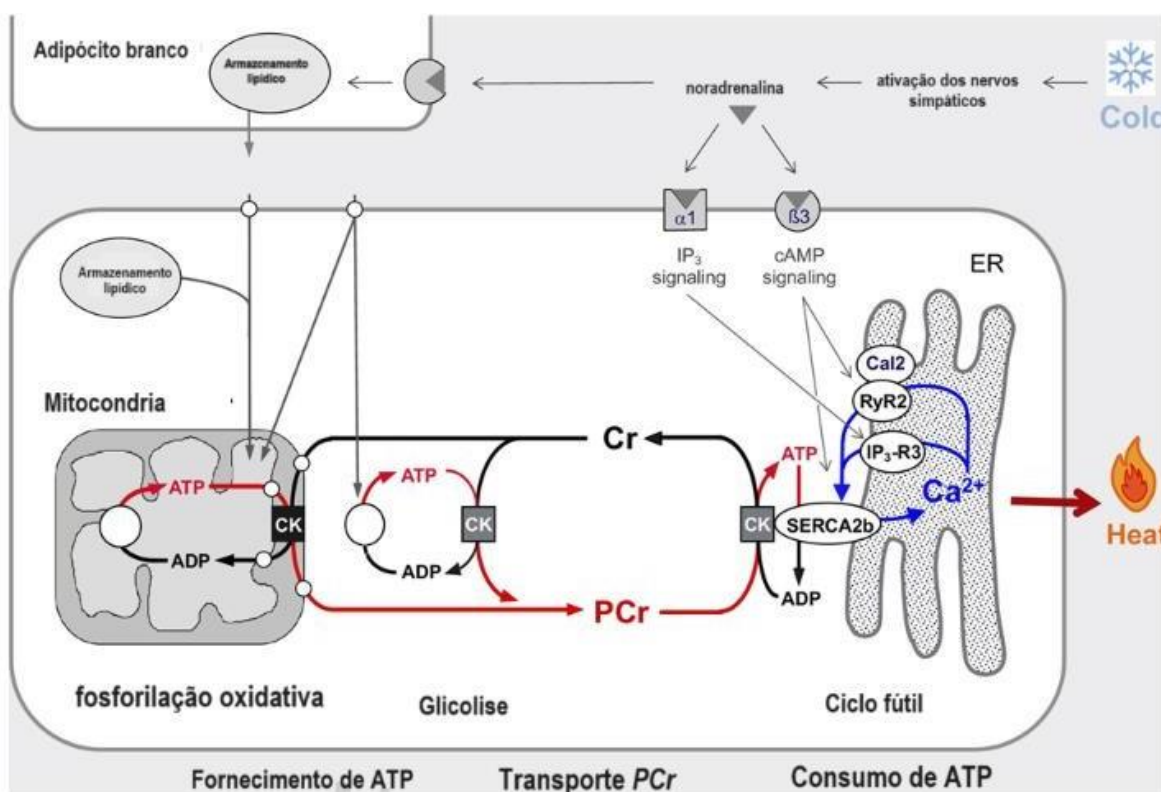
Fonte: Adaptada de The effect of caffeine on energy balance (HARPAZ et al., 2017).

#### 1.7.4 Creatina

A creatina é um substrato da proteína creatina quinase (CK) que participa da canalização de energia por meio do circuito CK/Pcr que leva ATP até os tecidos com alto gasto energético. Nos adipócitos bege e marrons, a geração de calor funciona em paralelo a respiração mitocondrial, onde o aumento da renovação de creatina está ligado a um ciclo fútil de prótons em que a energia é dissipada livremente em forma de calor. Sendo assim, a proteína CK melhora o fornecimento de ATP nas mitocôndrias, ocorrendo também uma interação com a translocase do nucleotídeo a de adenina e o canal iônico dependente de voltagem para trocar ATP da matriz por ADP e creatina citosólica (Cr) por PCr, respectivamente. Enquanto no retículo endoplasmático, a CK citosólica promove SERCA2b para bombeamento de  $\text{Ca}^{2+}$  e essa liberação livre de  $\text{Ca}^{2+}$  pode ser estimulada através do sistema nervoso simpático, norepinefrina e/ou receptores adrenérgicos ( $\alpha 1$ ,  $\beta 3$ ) resultando na termogênese não canônica, independente de UCP1, mas dependente de ATP e sem tremores (WALLIMANN et al., [S.d.]).

Além disso, alguns dados da literatura apontam a creatina como a suplementação mais indicada a ser combinada com a prática de exercícios físicos, pois ela é importante para ressintetizar ATP, especialmente durante períodos de maior demanda metabólica como a prática de exercícios. Isso ocorre através da reação reversível catalisada pela creatina quinase, a fosforilcreatina (PCr) combina-se com o difosfato de adenosina (ADP) para ressintetizar o ATP. Ademais, o PCr funciona como uma molécula de alta energia capaz de ressintetizar ATP significativamente mais rápido que a fosforilação oxidativa e os processos glicolíticos. Sendo o tecido muscular a estrutura que retém mais creatina ingerida por meio da suplementação que contribui para um melhor desempenho físico, resistência a fadiga e ganho de massa muscular (FORBES *et al.*, 2022).

**Figura 13:** Mecanismo de termogênese impulsionada pela creatina.



Legenda:

CK/PCr (setas vermelhas e pretas em negrito) melhora a transferência de energia entre células mitocondriais e/ou fornecimento de ATP glicolítico (grandes círculos brancos) e consumo de ATP no retículo endoplasmático (ER) por SR/ER  $Ca^{2+}$  117 -ATPase2b ( $SERCA2b$ ). Este transporte é apoiado por mitocondriais especificamente associados isoformas CK (quadrado preto) e CK citosólica (quadrados cinza). No sítio mitocondrial, CK interage funcionalmente com a translocase do nucleotídeo de adenina e o canal aniônico dependente de voltagem (pequeno círculos brancos) para trocar ATP da matriz por ADP e Cr citosólico por PCr, respectivamente. No local do RE, a CK citosólica alimenta  $SERCA2b$  para

bombeamento de  $\text{Ca}^{2+}$  121 (30), que pode mudar para fútil ciclagem de  $\text{Ca}^{2+}$  (setas azuis). Isto envolve a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  122 pelo receptor de rianodina (RyR2),

123 potencialmente regulado pela calstábina2 (Cal2) (12), ou pelo receptor 3 de inositol-3-fosfato (IP3-R3), facilitado pela sinalização IP3 (10). Essa ciclagem fútil de  $\text{Ca}^{2+}$  124 pode ser estimulada através do sistema simpático sistema nervoso, noradrenalina e/ou receptores adrenérgicos ( $\alpha$ 1,  $\beta$ 3) (10, 12, 13). Este clássico 126 CK/PCr shuttle conecta o fornecimento de ATP com o consumo de ATP baseado em ER por SERCA2b, apoiando assim ciclagem fútil de  $\text{Ca}^{2+}$  127 para não-canônicos, independentes de UCP1, mas não-tremores dependentes de ATP termogênese. Outras abreviaturas utilizadas: inositol 1,4,5-trifosfato (IP3), AMP cíclico (cAMP).

Fonte: Adaptada de *Role of creatine and creatine kinase in UCP1-independent adipocyte thermogenesis* (WALLIMANN et al, 2020).

## **1.8 Justificativa**

Existe uma relação entre a ingestão de compostos nutricionais com a termogênese, no entanto, esta começou a ser abordada com mais frequência na última década, relatando o potencial desses compostos no tratamento da obesidade e diabetes, principais distúrbios metabólicos que atingem a população mundial. Dessa forma, é importante analisar e discutir os estudos que abordam o tecido adiposo como sendo o órgão protagonista das complicações geradas em decorrências das doenças citadas anteriormente. Além disso, a obesidade tem tido um crescimento expressivo nos últimos anos e a remodelação do tecido adiposo a partir da transdiferenciação dos adipócitos brancos para bege/marrom apresenta-se como uma alternativa terapêutica viável considerando os riscos colaterais dos métodos de tratamento já existentes na indústria farmacêutica.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Esse estudo tem como principal objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre o bronzeamento do tecido adiposo e os componentes nutricionais que contribuem nesse processo.

### **2.2 Objetivo específico**

2.2.1 Descrever o bronzeamento do tecido adiposo e correlacionar esse mecanismo com a ingestão de nutrientes com potencial termogênico;

2.2.2 Explicar os mecanismos de ativação da termogênese induzidos pelos nutrientes da dieta, a transdiferenciação dos adipócitos brancos em bege (bronzeamento) e os dispositivos que desencadeiam a obesidade.

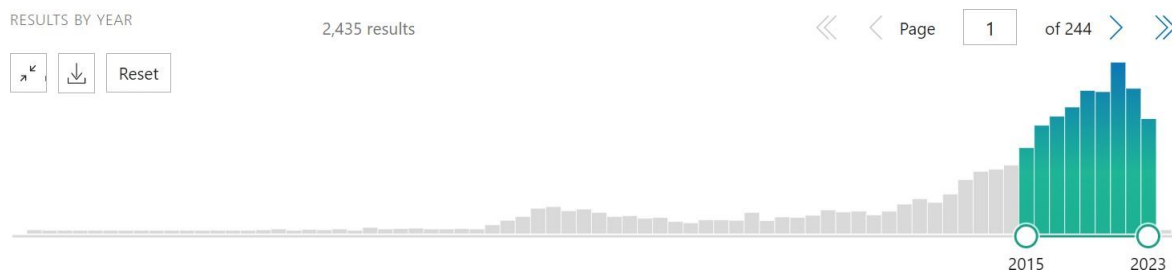
2.2.3 Revisar dados da literatura acerca do tema em modelos humano e animal.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Conforme os objetivos definidos, foi realizada uma revisão de literatura, buscando artigos científicos que abordassem o tema, na base de dados PubMed (disponível no *National Center for Biotechnology Information* – NCBI). Dessa forma, os parâmetros usados para selecionar a bibliografia foram artigos publicados entre os anos de 2015 e 2023, pois nesse período houve uma intensificação das publicações com a temática de bronzeamento do tecido adiposo associada a termogênese no WAT através da intervenção nutricional, utilizando as seguintes palavras-chave: “*Adipose tissue browning and diet*”, “*White adipocyte thermogenesis*”, “*Browning and cinnamon*”, “*Browning and berberine*”, “*Browning and Caffeine*” e “*Browning and creatine*”. Durante a escolha dos artigos, na etapa de identificação foram definidas as palavras chaves de busca que contemplassem o tema a ser abordado, em triagem foi aplicado o filtro para captar artigos entre 2015 - 2023, posteriormente em elegibilidade ocorreu a seleção dos artigos por título e a leitura completa do resumo para verificar se a temática estava relacionada ao objetivo do estudo, por fim na etapa de seleção foi realizada a leitura completa dos artigos para definir quais seriam incluídos na revisão.

Ademais, durante a triagem utilizamos alguns critérios para a seleção dos artigos específicos em relação aos nutrientes incluídos na revisão, o primeiro foi verificar se o estudo era fruto de um método experimental e não uma revisão bibliográfica, além disso, os resultados deveriam trazer achados de natureza bioquímica, histológica e de imagem, sinalização de maneira completa as alterações no tecido adiposo. Portanto, a partir dos títulos e resumos dos artigos realizamos um filtro daqueles que seriam lidos por completo, e posteriormente, incluídos como referência teórica deste estudo, como demonstrado a seguir.

**Figura 14:** Linha do tempo de triagem de artigos

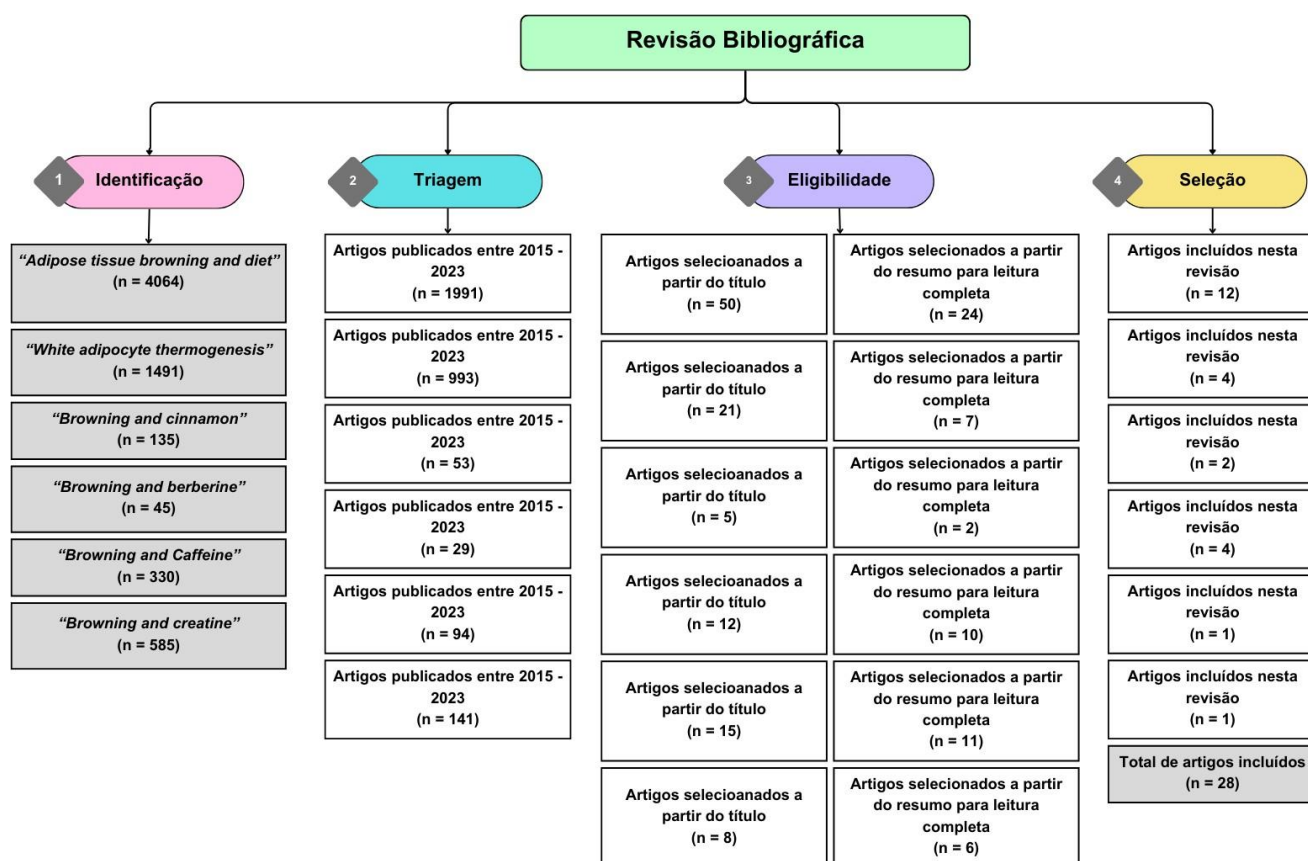


Legenda:

Filtro temporal da plataforma *pubmed* usado para seleção dos artigos.

Fonte: Autoria própria.

**Figura 15:** Processo de triagem bibliográfica dos artigos selecionados.



Fonte: Autoria própria.

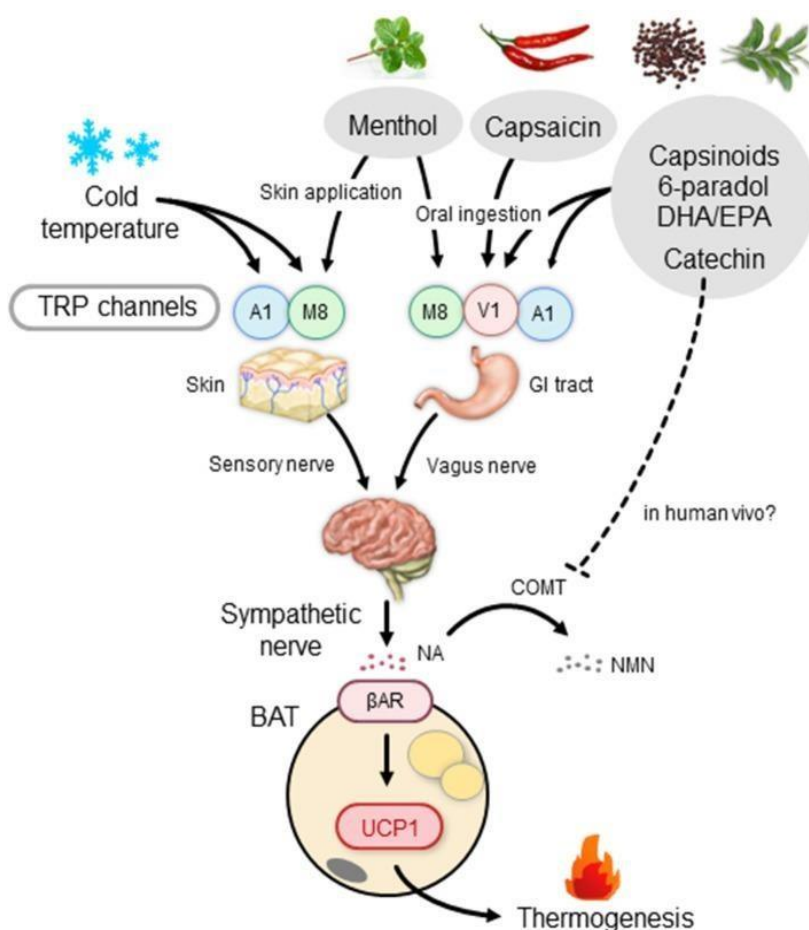
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Obesidade e termogênese

O tecido adiposo marrom tem sido estudado devido seu potencial termogênico quando o indivíduo é submetido a baixas temperaturas ou ocorre uma intervenção alimentar baseada em nutrientes termogênicos, sendo essencial na regulação energética e lipídica do organismo. De acordo com SAITO, et al 2020 quando o indivíduo é submetido a nutrientes termogênicos verifica-se melhorias no metabolismo da glicose, como também, na sensibilidade à insulina, o que torna esses alimentos alvos promissores para o tratamento de distúrbios metabólicos como a obesidade (SAITO *et al.*, 2020). Além disso, não podemos deixar de mencionar a importância do bronzeamento do WAT para diminuição dos impactos dos distúrbios metabólicos, que acontece a partir da transdiferenciação de adipócitos brancos maduros em bege induzida por fatores de transcrição ativados por nutrientes termogênicos (ZHONG *et al.*, 2023).

Após a realização de uma refeição estima-se que 10% das calorias são usadas no processo de termogênese, sendo usados principalmente carboidratos e ácidos graxos, inclusive há relatos que animais que possuem dietas ricas em proteínas tem baixa ativação do BAT. Em estudos anteriores foi visto que dietas ricas em EPA e DHA previne acúmulo de gordura e induzem UCP1 no BAT. Isso foi verificado em camundongos sem TRP vanilóide 1 (TRPV1), em que o ômega 3 apresenta atividade agonista, resultando em uma estimulação do nervo vago do intestino, impulsionando o eixo SNS- $\beta$ AR e a termogênese no BAT (SAITO *et al.*, 2020).

**Figura 16:** Termogênese ativada pelo eixo SNS- $\beta$ AR por indução de nutrientes da dieta.



Legenda:

Cold temperature - Temperaturas frias; Skin application - Aplicação na pele; Oral ingestion - Ingestão oral; Sympathetic nerve - Nervos simpáticos; Thermogenesis - Termogênese; BAT - Tecido adiposo marrom; Menthol - Mentol; Capsaicin - Capsaicina; Sensory nerve - Nervos sensoriais; Vagus nerve - Nervos vagos.

Fonte: *Brown Adipose Tissue, Diet-Induced Thermogenesis, and Thermogenic Food Ingredients: From Mice to Men* (SAITO et al., 2020).

Ademais, alguns estudos mostram a indução do bronzeamento do tecido adiposo como tratamento eficaz para obesidade, se tratando de intervenções não farmacológicas: exposição ao frio, dieta, atividade física, microbioma, enxerto de tecido adiposo e cirurgia bariátrica. Sendo acionados mecanismos diferentes, dando enfoque as mudanças provocadas pela dieta, sabemos que dados *in vitro* e *in vivo* relatam a transdiferenciação dos adipócitos brancos devido estimulação de alimentos termogênicos, entre os componentes envolvidos está ativação da sinalização ADRB3 e AMPK/PGC-1 $\alpha$ , estimulação

da secreção de citocinas termogênicas e anti-inflamatórias, bem como alterações epigenéticas (KURYŁOWICZ; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, 2020b).

## 4.2 Intervenção nutricional de termogênicos

### 4.2.1 *Cinnamomum cassia*

O conhecimento do potencial termogênico da canela data das primeiras civilizações orientais e está registrado em seus manuscritos. Dessa forma, esse estudo selecionou a substância *cinnamomum* que teve os seus compostos descritos por meio de um cromatograma HPLC e as informações obtidas foram cruzadas com os dados já conhecidos sobre substâncias capazes de ativar o metabolismo energético. Além disso, durante esse processo foram identificados genes termogênicos ativados e regulados pela canela que estariam relacionados a transdiferenciação dos adipócitos e atividade do BAT. Sendo utilizado o modelo animal de camundongos para realização do estudo, espécie *kunming* e gênero macho, que foram divididos no grupo controle, controle positivo (CL316243), e seis grupos de tratamento com ervas, incluindo o *cinnamomum*. O tratamento durou por 21 dias e que os animais eram submetidos a uma temperatura de 20°C graus e um jejum de 12 horas, com registro da temperatura superficial por infravermelho e central com termômetro retal, obtendo o resultado de temperatura mais elevada após a exposição ao frio nos camundongos tratados com o extrato de canela, em comparação às outras substâncias, revelando a partir das imagens uma distribuição mais ampla e uniforme da temperatura corporal, como também, ocorreu a elevação da temperatura retal, regulação positiva de UCP1 a partir da análise imuno-histoquímica, diminuição das vesículas lipídicas e aumento no número de adipócitos (XIANG-LI et al., 2021).

Anteriormente, o mesmo grupo de pesquisa realizou outro estudo acerca do potencial termogênico da canela, utilizando o modelo experimental animal, dividindo os camundongos machos *kunming* em 06 grupos com 10 animais, o primeiro sem exposição ao frio (controle), o segundo com exposição ao frio, o terceiro tratado com CL316243, o quarto, quinto e sexto com as respectivas dosagens do extrato de canela(CE), 90, 180 e 360 mg/kg por um período de 21 dias antes da exposição ao frio. Após o período de 21 dias todos os animais foram submetidos a uma temperatura de 4°C por 240 minutos, exceto o grupo

controle e a exposição intercalada de  $-20^{\circ}$  durante 60 minutos. Além disso, para que não houvesse interferência os animais ficaram em jejum de 12 horas e em seguida foi aferida a temperatura retal, enquanto que o mapeamento da temperatura do tecido adiposo interescapular foi realizado com uma câmera digital infravermelha. Portanto, foi observado que o extrato de canela melhorou a temperatura corporal dos camundongos durante a exposição ao frio, tanto de maneira superficial captado pelo infravermelho, como retal em que percebemos a regulação positiva do CE após a exposição a  $4^{\circ}\text{C}$  por 240 minutos, a queda da temperatura retal diminui de acordo com a dose, enquanto que a temperatura corporal central dos grupos CE poderia retornar ao nível normal mais rapidamente do que o grupo modelo (XIANG-LI *et al.*, 2021).

É relatado em literatura que, o processo de produção de calor envolve a beta oxidação de ácidos graxos, fosforilação oxidativa, glicólise, entre outros, para houvesse a compreensão do gasto energético dos animais, foram coletadas amostras de sangue após a exposição ao frio e analisado a variação dos níveis de glicemia de jejum, ácidos graxos não esterificados (NEFA) plasmáticos e triglicerídeos, a glicemia de jejum no grupo modelo apresentou elevação relevante se compara ao grupo controle, o CE reduziu os níveis de glicose aumentados pelo estresse da exposição ao frio, não houveram alterações significativas no NEFA, exceto no grupo CE-360 mg/kg e o CE regulou de forma negativa dos triglicerídeos em baixas temperaturas. Além disso, os animais foram alimentados em condições diferentes respiratórias em gaiolas que mediam o metabolismo do consumo de oxigênio( $\text{VO}_2$ ) e produção de gás carbônico( $\text{VCO}_2$ ) durante 24 horas a  $4^{\circ}\text{C}$ , sendo verificado por 5 minutos por dia. Sendo assim, observamos que houve um aumento no consumo de oxigênio no grupo CE 360 mg/kg em comparação com o grupo modelo, por conseguinte ocorreu uma maior produção de  $\text{CO}_2$  e gasto energético (XIANG-LI *et al.*, 2021).

Ademais, outros relatos da literatura indicam que o potencial do extrato de canela no aumento da temperatura corporal, dessa forma, o estudo se propôs a investigar se 21 dias seriam suficientes para ativação do BAT e os resultados obtidos sinalizam que houve uma mudança na coloração do tecido, como também, uma redução no tamanho de gotas lipídicas e um aumento da quantidade no interior dos adipócitos, sendo observado tanto no BAT, quanto no WAT. Além disso, foi verificado uma elevação no nível da proteína UCP1 após a

exposição ao frio com uma quantidade 4 vezes maior que a do grupo controle, sendo observada a regulação positiva de genes termogênicos específicos Ucp1, Pparg1a e Prdm16 (XIANG-LI et al., 2021).

Por fim, foi demonstrado o efeito termogênico do extrato de canela, melhorando a resistência dos camundongos ao frio e regulando o metabolismo energético, esse processo incluiu o aumento na expressão de proteínas termogênicas, tanto no BAT como no WAT, no metabolismo lipídico e no consumo de oxigênio. Além de que, o CE aumentou a tolerância ao frio nos animais, sendo impulsionado pelas enzimas de lipólise pHSL que degrada os triglicerídeos dos adipócitos que ativou a expressão de UCP1 através da via AMPK/SIRT1. Dessa forma, o CE é um tratamento em potencial para prevenir lesões causadas pelo frio, como também, reduzir os impactos dos distúrbios metabólicos (XIANG-LI et al., 2021).

#### **4.2.2 Berberina**

A berberina é extraída de algumas espécies de plantas e é conhecida pela sua ação anti-hiperlipídica, tendo origem milenar oriental. Dessa forma, neste estudo clínico a substância Berberina(BBR) foi administrada por 1 mês a 10 indivíduos com sobrepeso leve e doença hepática gordurosa não alcoólica(NAFLD), que foram orientados a manter os seus hábitos alimentares e de exercícios físicos, sendo realizada a técnica de PET/CT 18F-FDG antes e depois da ingestão de BBR. Dessa forma, foram analisados vários aspectos para ter resultados completos acerca dos benefícios da berberina após o tratamento e a partir dos dados foi calculado o valor p para verificar se a hipótese do estudo seria aceita ou rejeitada. Além do mais, o estudo mostrou que houve perda de peso, redução da inflamação e aumento da sensibilidade à insulina, como consequência da ativação do BAT, em um mês de intervenção da BBR (WU et al., 2019).

Portanto, os achados na literatura sinalizam que a BBR pode aumentar a massa e a atividade do BAT em pacientes com NAFLD com o uso da técnica PET/CT 18F-FDG, sendo observado o valor médio de absorção de SUV nas regiões contendo o tecido adiposo marrom e o valor máximo de SUV e a regressão de linear da porcentagem de alteração da atividade do BAT e do HOMA-IR nos 10 pacientes (WU et al., 2019).

Posteriormente, o grupo optou por realizar experimentos com o modelo animal para enriquecer os dados já obtidos, usando um ensaio que selecionou camundongos C57BL/6J machos com 6 semanas de idade, que foram submetidos a um ciclo de claro-escuro de 12 horas e livre acesso a comida e água. Durante o experimento, parte do grupo foi alimentado com uma dieta gordurosa e outros com ração, na marca de 14 semanas de idade os animais foram designados de forma aleatória ao tratamento com BBR ou salina diário por 6 semanas. Após isso, os camundongos obesos induzidos pela dieta(DIO) e ratos magros alimentados com ração apresentaram ao final do experimento um aumento na temperatura retal, como também, a redução da massa do WAT inguinal (iWAT) e WAT perirrenal, mantendo a dieta anterior dos indivíduos. Além disso, ocorreu um maior consumo de oxigênio, produção de gás carbônico e gasto calórico, em comparação com o grupo veículo(Veh) que não recebeu o tratamento da berberina(WU *et al.*, 2019).

Em continuidade, os pesquisadores utilizaram pré-adipócitos marrons humanos fetais e isolaram células da fração vascular estromal primária(SVF) do BAT de camundongos que foram colocadas em uma incubadora com meios favoráveis a diferenciação células por alguns dias, com a presença e ausência de BBR. Dessa forma, a BBR promoveu a diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos marrons, sendo a presença de UCP1 percebida de acordo com a dose de BBR, como também, de mRNA relacionados ao BAT, como: *Ucp1*, *Prdm16*, *Cidea*, *Ppargc1a*, *Ppargc1b*, *Elovl3*, *Cox7a1* e *Cox8b*. Além disso, foi verificado a um aumento nos níveis de expressão dos genes de  $\beta$ -oxidação, como: *Ppara*, *Cpt-1b*, *Acox1* e *Lcad*. Como também, genes adipogênicos: *Pparg*, *Cebpa* e *aP2* (WU *et al.*, 2019).

Em virtude da descoberta de que os bioativos da BBR apresentam mecanismos capazes de tratar doenças crônicas, na última década se intensificou os estudos e experimentos buscando a compreensão de como acontecia esse processo. Portanto, um grupo de pesquisadores especulou que a BBR melhora a via AMPK / SIRT1 e pode atuar como um ativador seletivo do *PPAR $\gamma$*  para promover a remodelação e a termogênese do tecido adiposo, e a partir dessa hipótese se propôs a trazer os indícios de que ela seria um potencial tratamento para a obesidade. Para esse estudo foram selecionados camundongos C57BL / 6J machos com 6 semanas de idade, camundongos com

deleção do exon 4 do gene *sirt1* foram usados para isolar fibroblastos embrionários. Além disso, todos os animais foram alojados em uma sala com temperatura e umidade controlada com ciclos de claro e escuro de 12 horas, com livre acesso a comida e água. Os roedores se dividem em quatro grupos, NCD (dieta de ração normal), HF (dieta de ração rica em gordura), grupo BBR-25 e BBR-100 (XU et al., 2021).

Os animais tiveram a dieta HF até as 8 semanas de idade, exceto o grupo que foi determinado que se alimentaria de ração comum, após esse período os grupos receberam tratamento com salina, BBR 25mg/kg e 100mg/kg todos os dias até 20 semanas de idade, permanecendo com a dieta HF durante o tratamento. Ao final foi observado que os camundongos tratados com BBR apresentaram um ganho de peso menor que do grupo com dieta HF não tratado, mesmo os 3 grupos tenham a ingestão energética aproximada, indicando que a BBR aumentou o gasto energético dos animais suprimindo o ganho de peso. Além disso, foram realizados exames para verificar a quantidade de glicose no sangue e a sensibilidade a insulina, obtendo informações de que os grupos tratados possuíam baixas concentrações de glicose no sangue, se comparado ao HF sem BBR, e baixa intolerância a insulina. Como também, os valores de colesterol total, triglicerídeos e o colesterol de lipoproteína de baixa densidade foram significativamente mais baixos que dos camundongos com dieta gordurosa sem tratamento. E foi realizado um estudo de calorimetria indireta de 5 dias utilizando gaiolas metabólicas após uma aclimatação de 2 dias, os resultados indicaram que a produção de  $VO_2$ ,  $VCO_2$  e o gasto energético foram maiores nos grupos tratados com BBR do que no grupo HF (XU et al., 2021).

Após a finalização do experimento na 20ª semana os animais foram sacrificados e o tecido adiposo branco inguinal(i-WAT), visceral(v-WAT) e BAT foram isolados e pesados. As proporções do tecido adiposo branco inguinal e visceral apresentaram maior massa no grupo HF em comparação ao NDC, enquanto que os grupos tratados com BBR tiveram menor massa comparados aos camundongos com dieta rica em gordura não tratados, além disso, observamos um aumento na massa do BAT em indivíduos que receberam a BBR, como também, no teste de exposição ao frio o grupo BBR 100mg/kg apresentou a capacidade de termorregulação adaptativa em detrimento do grupo HF (XU et al., 2021).

Ademais os adipócitos marrons possuem múltiplas gotículas lipídicas em seu citoplasma, enquanto que os brancos têm uma única gotícula que ocupa quase toda a célula. Portanto, foi verificado que na coloração a HE os grupos tratados com BBR a acordo com a dose gotículas menores e múltiplas, no BAT e iWAT em comparação ao HF. Além de que, a análise imuno-histoquímica revelou uma maior expressão de UCP1 de acordo com a quantidade ingerida de BBR e outros genes relacionados a termogênese e oxidação de ácidos graxos (XU et al., 2021).

Quando ocorre o bronzeamento(escurecimento) do tecido adiposo branco, ele ganha características morfológicas semelhantes à do BAT, como o aumento do número de mitocôndrias e gotículas lipídicas no citoplasma. Dessa forma, com a coloração HE foi percebido que os grupos tratados com BBR apresentaram mais gotículas de tamanho menor se comparado ao grupo HF. Além disso, a elevada expressão de *UCP1* indica que houve termogênese nos indivíduos que receberam a BBR, sendo observada no i-WAT e no BAT. Ademais os níveis de mRNA dos genes da termogênese e oxidação de ácidos graxos foi significativamente maior no i-WAT e BAT dos inoculados com BBR em comparação ao grupo HF (XU et al., 2021).

Para continuidade do estudo, foram usados pré-adipócitos brancos 3T3-L1 e pré-adipócitos marrons HIB1b para avaliar a capacidade da BBR remodelar essas células in vitro. Durante o experimento as células 3T3-L1 e HIB1b foram incubadas com *Mito-Tracker Red*, e após 8 dias de diferenciação, elas foram tratadas com veículo ou BBR (5  $\mu$ M) por 24 h e nos resultados é possível visualizar que os adipócitos que receberam o tratamento com BBR apresentam uma coloração vermelha mais forte no citoplasma indicando uma elevação no número de mitocôndrias. Além do mais, a microscopia eletrônica de transmissão que as células 3T3-L1 tratadas com BBR apresentaram características morfológica de adipócitos marrons com aumento da densidade mitocondrial e gotículas lipídicas menores. Em seguida, verificamos se *SIRT1* estava envolvida na regulação da remodelação do tecido adiposo, o *Western blot* mostrou um aumento nas expressões de *SIRT1* e *UCP1* em células 3T3-L1 e HIB1b com tratamento com BBR de acordo com a dose administrada, enquanto que *PPAR $\gamma$*  não teve alterações relevantes. Entretanto, quando o *lentivírus* bloqueou a expressão de *SIRT1* nas células 3T3-L1 e HIB1b foi percebido uma diminuição

da presença de *UCP1* nas que receberam BBR. Portanto, os níveis de mRNA dos genes da termogênese e oxidação de ácidos graxos tiveram crescimento com a BBR, porém as células *sh SIRT1* isso não aconteceu devido o bloqueio da *SIRT1*. E, a partir da coloração *Oil Red* foi possível vislumbrar a redução das gotículas lipídicas em adipócitos brancos tratados com BBR da linhagem celular 3T3-L1 que expressavam *SIRT1*, sugerindo que a BBR é dependente da *SIRT1* transdiferenciação dos adipócitos brancos para bege (XU *et al.*, 2021).

Neste estudo, foi confirmado que não houve alteração significativa na quantidade de *PPAR $\gamma$*  no tecido adiposo após o tratamento com BBR. Por isso, o grupo de pesquisa avaliou a hipótese de que a BBR remodela o tecido adiposo branco para bege baseado no ajuste do nível de acetilação do *PPAR $\gamma$* . Para testar a hipótese as células 3T3-L1 e HIB1b receberam o tratamento com BBR após a diferenciação celular e foram analisadas quanto ao nível de acetilação do *PPAR $\gamma$*  através do ensaio com anticorpo anti-lisina acetilada e anticorpo anti-*PPAR $\gamma$* . Os dados revelaram que os níveis de acetilação de *PPAR $\gamma$*  diminuiu consideravelmente em células tratadas com BBR, elucidando que a BBR aumentou a desacetilação do *PPAR $\gamma$* . Com a finalidade de esclarecer o envolvimento da *SIRT1* nesse processo, as células com bloqueio da *SIRT1* foram tratadas com BBR e foi percebido que não houve alterações no nível de acetilação do *PPAR $\gamma$*  mesmo com a presença da BBR, que foi visto nas células *Sirt1*<sup>-/-</sup> MEF. Posteriormente, transfectamos os plasmídeos mutantes *WT-SIRT1*, *shSIRT1* e *SIRT1* (363HY) em células 3T3-L1 tratadas com BBR e os resultados mostraram que a BBR contribuiu para o aumento da desacetilação do *PPAR $\gamma$*  pelo plasmídeo *WT-Sirt1*, mas não pelo plasmídeo mutante *Sirt1* cataliticamente inativo (H363Y). Por fim, os experimentos acima apontaram que BBR aumenta o nível desacetilado de *PPAR $\gamma$* , promovendo a interação entre *SIRT1* e *PPAR $\gamma$*  (XU *et al.*, 2021).

Além de que, a AMPK tem um desempenho importante no processo de termogênese induzido por BBR, mas na literatura atual ainda não existem detalhes de como esse mecanismo acontece. Por isso, o estudo examinou as expressões de AMPK no i-WAT e BAT por western blot nos tratados com BBR e os resultados indicaram que as expressões de P-AMPK em IWAT e BAT de camundongos com tratamento com BBR aumentaram de maneira dependente da dose do que no grupo HF. Isso, pode sinalizar que a BBR participa da ativação

de AMPK no tecido adiposo branco subcutâneo e no BAT. Como a atividade de desacetilase SIRT1 é impulsionada pela razão  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  intracelular para ativar a SIRT1, para validar essa teoria, foram tratadas células 3T3-L1 com BBR, AICAR (ativador de AMPK), Composto C (inibidor de AMPK) e células 3T3-L1 pré-tratadas com composto C+BBR. E foi verificado que BBR e AICAR aumentaram a razão  $\text{NAD}^+$  e  $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$  em células 3T3-L1 e o efeito de BBR desapareceu após o co-tratamento com o Composto C. Dessa forma, concluímos que a AMPK regula o nível de desacetilação do  $\text{PPAR}\gamma$  de maneira dependente da SIRT1 (XU *et al.*, 2021).

Ying-chin Lin juntamente com outros colaboradores realizaram um experimento com a BBR utilizando pré-adipócitos 3T3-L1 de camundongo cultivados em um meio de crescimento suplementado. E a partir disso, foi observado que o corante Oil red-O (ORO) mostrou mais gotículas de lipídio acumuladas nas células tratadas com BBR do que nas células de diferenciação tratadas com Rosiglitazona, dessa forma, o meio suplementado(DM) e tratado com BBR aumentou o número de mitocôndrias nas células se comparado as células não diferenciadas cultivadas no meio de crescimento(GM). Além disso, houve aumento nos fatores específicos dos adipócitos *beige* *CITED1*, *BMP7*, *PRDM16* e *UCP1* foram identificados nas células 3T3-L1 tratadas com BBR em comparação com as células que receberam o veículo. Portanto, conclui-se que a BBR isoladamente ou do meio de diferenciação com rosiglitazona contribuiu para o aumento na taxa de consumo basal de oxigênio(OCR), OCR máximo e a na produção de ATP nas células 3T3-L1 tratadas com BBR quando comparadas as células tratadas com veículo (LIN *et al.*, 2019).

Ademais, os resultados de *RT-PCR* indicaram perfis de *splicing* dos genes *PRDM16*, *LIPIN1* e *PKM* relacionados aos adipócitos marrons foram reprogramados em células que receberam o tratamento com BBR, validado através dos níveis elevados de transcritos *PRDM16 + ex16*, *LIPIN1 -ex6* e *PKM2*. Desse modo, as proteínas RBM4a e SRPK1 mostraram participação nesse processo, sendo percebido um aumento em RBM4a com diminuição dos transcritos de SRPK1 nas células tratadas com BBR em comparação as não diferenciadas que receberam o veículo. Esses dados,

colaboram para sinalização da influência da BBR na modulação da rede de *splicing* de adipócitos marrons em células 3T3-L1 (LIN *et al.*, 2019).

Durante o experimento foi levantada hipótese de a expressão regulada positivamente de RBM4a era relevante para os perfis de expressão de miRNA durante a adipogênese bege e a por meio dos resultados da análise do transcriptoma houve uma diminuição de *miR-92a-5p* nas células tratadas com BBR ou células 3T3-L1 em diferenciação(DM) em paralelo as tratadas com veículo(GM). Como também, os resultados de RT-PCR e qPCR mostraram uma diminuição no *miR-92a-5p* com elevação nos níveis de *miR-485* na diferenciação de células 3T3-L1 ou em células tratadas com BBR em confronto com as células em GM. Essas informações obtidas sugerem a influência do *miR-92a-5p* na redução da expressão da proteína RBM4a durante a adipogênese bege (LIN *et al.*, 2019).

A transcrição do conjunto *miR-17-92a* de seis miRNAs foi conduzida pelo promotor *C13orf25*, no ensaio in vitro foi visualizado que as células com tratamento DM e BBR diminuíram a atividade do promotor em comparação as células GM. Além disso, nas células tratadas com BBR foi observado uma queda nos níveis do transcrito de SP1 e na proteína codificadora, com elevação do mRNA de MYC. Com a finalidade de demonstrar a participação de SP1 ou MYC na atividade do promotor *c13orf25*, foi construído um mutante contendo nucleotídeos substituídos dentro do sítio de ligação SP1 (*Mut1*) ou sítio de ligação MYC (*Mut2*) e submetido a um ensaio repórter in vitro que mostrou que houve a ruptura do sítio de ligação SP1 (*Mut1*) reduziu a atividade do promotor *c13orf25*, enquanto que os ajustes dentro do sítio de ligação MYC (*Mut2*) fortaleceram a atividade do promotor. Esses resultados, sugeriram que as expressões moduladas por BBR da proteína SP1 e MYC constituíam um mecanismo síncrono para regular a atividade do promotor *c13orf25* (LIN *et al.*, 2019).

Para validar a especificidade de direcionamento de transcritos miR-92a-5p de camundongos para RBM4a, o vetor de expressão WT miR-92a-1 foi construído e mutado por substituições de guanina para timina ou adenina para citosina no segundo nucleotídeo da sequência de sementes de miR-92a-2-5p e miR-92a-2-3p. Em vista disso, os resultados dos experimentos in vitro revelaram uma atividade reduzida do repórter pRL-mRBM4a em comparação com a do

vetor pRL-TK em células 3T3-L1, e a atividade dos repórteres pRL-mRBM4a, Mut1 e Mut2 foi regulada positivamente nas células em diferenciação ou nas células tratadas com BBR em comparação as células não diferenciadas. Além de que, a superexpressão de *miR-92a-5p* ou *miR-92a-m3p*, induziu a diminuição da atividade de *pRL-mRBM4a* em confronto com as células transfectadas com miRNA, como também, a interrupção dos locais de direcionamento *miR-92a-5p* aliviou o efeito repressivo da superexpressão do miR-92-5p na atividade dos repórteres mutantes em comparação com o do repórter WT. Esses insumos ilustraram o impacto do miR-92a-5p na regulação da expressão de RBM4a (LIN *et al.*, 2019).

Com a finalidade de verificar a influência do *miR-92a* no bronzeamento dos adipócitos *in vitro* induzido por BBR, as células 3T3-L1 foram respectivamente transfectadas com o vetor de expressão gerando miRNA embaralhado, WT *miR-92a-5p* ou *miR-92a-m5p* e submetidas ao tratamento com BBR. Sendo assim, os resultados apontaram que a superexpressão de *miR-92a-m5p* não provocou alterações aparentes nos perfis de expressão dos transcritos relacionados aos adipócitos marrons ou bege nas células transfectadas GM, DM ou BBR se comparadas as células transfectadas com miRNA misturado. Porém, houve uma interferência WT- *miR-92a-5p* no impacto da BBR em relação aos perfis de *splicing* de *PRDM16*, *LIPIN1* e *PKM*, enquanto que WT *miR-92a-5p* ou *miRNA scramble* contribuiu para a diminuição dos efeitos de DM e BBR, aumentando as expressões dos transcritos relacionados aos adipócitos marrons e não teve influência nos perfis de *splicing*. Ademais, as células superexpressoras WT *miR-92a-5p* ou *miR-92a-m3p* exibiram níveis relativamente baixos de produção máxima de OCR e ATP em comparação as células transfectantes de miRNA misturados ou miR- Células superexpressoras de *92a-m5p* em GM. Analisando os dados em conjunto foi sugerido que a expressão regulada positivamente de *miR-92a* diminuiu as assinaturas termogênicas que foram aprimoradas com o tratamento da BBR em células 3T3-L1 (LIN *et al.*, 2019).

Por fim, para correlacionar o bronzeamento dos adipócitos *in vitro* induzido por RBM4a e BBR, o RBM4a endógeno foi esgotado pela introdução do vetor de direcionamento em células 3T3-L1. Portanto, os achados da coloração ORO revelaram que a depleção de RBM4a endógeno diminuiu o efeito da BBR

na indução da acumulação lipídica em contraste das células que foram transfectadas com vetor vazio. Dessa forma, a depleção de RBM4a reduziu os efeitos da BBR reduzindo a expressão dos transcritos relacionados aos adipócitos marrons comparado as células que receberam vetor vazio. Além disso, as células com depleção de RBM4a tiveram atividade reduzida em OCRs máximos e produção de ATP em paralelo as de vetor vazio e o conjunto desses dados sugeriu que a abundância de RBM4a foi relevante para o impacto da BBR no escurecimento das células 3T3-L1 (LIN *et al.*, 2019).

### 4.2.3 Cafeína

Para elucidar a hipótese de que a cafeína está associada a perda de peso foi utilizado células-tronco mesenquimais de camundongo (mMSCs) foram cultivadas com a indução da adipogênese usando um meio de crescimento suplementado e células-tronco primárias derivadas da medula óssea humana (hMSCs) que receberam o tratamento com a cafeína. Dessa forma, os resultados obtidos sugeriram que a cafeína promoveu uma expressão significativa de UCP1 em células mMSC acompanhada do proliferador de peroxissoma (PGC-1 $\alpha$ ) se comparado as células controle. Além de que, a coloração vermelha das mitocôndrias revela um aumento potencial da mitocondriogênese provocado pela exposição a cafeína e ocorreu uma modificação no formato da organela que passou a ser mais arredondada com um número maior de cristas lamelares. Sendo possível observar uma resposta semelhante nas células MSC humanas, onde houve um elevado conteúdo lipídico, atividade metabólica e abundância da proteína UCP1 (VELICKOVIC *et al.*, 2019).

Com o intuito de determinar se a cafeína também provocou alterações funcionais na bioenergética, as células foram analisadas utilizando o ensaio *Seahorse* e os dados obtidos sinalização que o tratamento com cafeína melhorou a respiração basal, a produção de ATP, a respiração não mitocondrial, a liberação de prótons, a capacidade respiratória máxima e a taxa de acidificação extracelular (ECAR) também foi aumentada pela cafeína. Ademais, a cafeína promoveu a elevação da glicólise, fosforilação oxidativa e diminuiu a eficiência do acoplamento.

Além disso, a presença da cafeína aumentou a expressão gênica de *PPAR $\gamma$* , adiponectina e *FABP4*, como também, de marcadores bege *CITED1*, *CD137* e

*P2RX5*, e genes seletivos para adipócitos marrons *UCP1*, *PRDM16*, *PGC-1 $\alpha$* , *LHX8*, *COX8b* e *AR- $\beta$ 3*. Para mais, em humanos o consumo do café elevou de maneira significativa a temperatura da região supraclavicular co-localizada com o tecido adiposo marrom refletindo o aumento do T SCV em relação à temperatura de referência da superfície corporal (T rel ;), um efeito não observado apenas com o consumo de água (T SCV : antes da ingestão de água:  $34,55 \pm 0,16$  °C; após ingestão de água:  $34,55 \pm 0,17$  °C;  $\Delta T$  REL com ingestão de água:  $0,13 \pm 0,12$  °C; n = 9). A temperatura do ponto de referência permaneceu inalterada, por exemplo, pré-cafeína  $31,12 \pm 0,27$  °C; pós cafeína  $32,09 \pm 0,31$  °C (n = 9).

#### 4.2.4 Creatina

Kazak L em conjunto com outros colaboradores se propuseram a comparar as propriedades proteômicas e bioenergéticas das mitocôndrias isoladas do tecido adiposo bege e marrom após a indução da termogênese através da exposição ao frio. Para isso, os camundongos foram submetidos a 4°C com o intuito de ativar a termogênese no tecido adiposo branco inguinal subcutâneo (iWAT) e no tecido adiposo marrom interescapular (BAT). Dessa forma, na análise *western blotting* foi possível observar que houve um aumento significativo no rendimento mitocondrial de até 10 vezes maior em adipócitos bege e 2 vezes maior em adipócitos marrons após os animais serem expostos ao frio. Além disso, as mitocôndrias de originadas do iWAT e BAT apresentaram um aumento na presença de UCP1 que indica que ocorreu termogênese nos adipócitos bege do iWAT após a exposição ao frio (KAZAK *et al.*, 2015).

Para identificar a semelhança e o diferencial bioquímico entre as linhagens de adipócitos bege e marrons C57BL / 6 e 129SVE de camundongos exposto ao frio, foi utilizada a espectrometria de massa com marcação peptídica com o intuito de verificar as proteínas envolvidas no processo. Portanto, a análise desse processo demonstrou que as proteínas envolvidas no metabolismo da creatina e prolina dependente de arginina foram mais abundantes em adipócitos bege em relação aos marrons. E as proteínas atribuídas como principais nessa via são 14 no total (tabela 4) com capacidade de sintetizar creatina e remover ornitina, um inibidor da biossíntese de creatina, sendo mais abundantes em mitocôndrias do tecido adiposo bege as proteínas GATM (*Glycine*

*Amidino transferase*), CKMT2 (*creatine kinase, mitochondrial 2*) e subunidades da ATP sintase. Além disso, as mitocôndrias do iWAT continham níveis mais elevados de atividade da creatina quinase (CK) em relação as do BAT nas cepas de camundongos C57BL / 6 e 129SVE após exposição ao frio (KAZAK *et al.*, 2015).

Considerando os dados obtidos, o metabolismo da creatina foi considerado uma característica especial dos adipócitos bege termogênicos em um nível proteico, houve um monitoramento das mudanças na expressão de mRNA dos genes envolvidos no metabolismo da creatina após a exposição dos animais ao frio. E houve uma elevação dos transcritos desses genes no iWAT em resposta a exposição ao frio, porém no BAT não ocorreu o mesmo, enquanto que a os transcritos de GATM E CKMT1 foi semelhante nos dois tecidos. Entretanto, a expressão das proteínas GATM e CKMT1 foi mais significativa nas mitocôndrias dos adipócitos bege em comparação aos marrons. Além de que, foi verificado a diferença nos níveis de creatina e fosfocreatina (PCr) em iWAT e BAT de camundongos alojados a 30°C ou 4°C, e no iWAT esses níveis ficaram 2 vezes mais elevados após a exposição ao frio. Esses resultados sugerem que a relação PCr/creatina apresenta redução considerável no iWAT em animais expostos ao frio, corroborando para o aumento do metabolismo da creatina em adipócitos bege (KAZAK *et al.*, 2015).

Portanto, a partir dos resultados que foram colhidos o grupo de pesquisa levantou a hipótese de que a creatina poderia dissipar o *pool* de ATP mitocondrial para conduzir a respiração dependente de ADP em mitocôndrias de adipócitos bege e que esse processo exigiria a hidrólise de ATP mediada por creatina e CK no mecanismo catalítico de consumo e produção de ATP, considerando isso, foi testado se a creatina poderia estimular o ciclo de substratos e aumentar a respiração dependente de ADP em mitocôndrias de adipócitos bege (KAZAK *et al.*, 2015).

Em relatos da literatura foi discutido que os tecidos musculares estriados utilizavam o metabolismo da creatina de maneira que o ATP mitocondrial e a creatina geram PCr e ADP, e o *pool* de PCr resultante é usado para conduzir a fosforilação do ADP em nível de substrato durante períodos de déficit de ATP. Portanto, sugere-se que a creatina conduz a um ciclo fútil de substrato, que resulta em um excedente de consumo de oxigênio se o ADP for limitante. Por

consequente, a relação entre creatina e a respiração acoplada à ATP sintase foi analisada com a técnica de *Western blotting*, com isolamento das mitocôndrias de alguns tecidos, demonstrando rendimentos mitocôndrias semelhantes no BAT, BRITE, coração, rim e fígado(KAZAK *et al.*, 2015).

A adição de quantidades subestequiométricas de creatina (0,01 mM) estimulou um aumento de aproximadamente 30% na respiração das mitocôndrias de gordura bege na presença de níveis subsaturantes de ADP. Além disso, a creatina não afetou de forma relevante a taxa inicial de consumo de oxigênio estimulada pelo ADP, mas melhorou a frequência respiratória quando os níveis de ADP foram restringidos. Ademais, a creatina acarretou o aumento no consumo de oxigênio equivalente a um excesso de 7,82 vezes ( $\pm 2,12$ ) de fosforilação do ADP, indicando que nas mitocôndrias presentes nos adipócitos bege a creatina atua subestequiometricamente (em relação à fosforilação do ADP) para aumentar a síntese de ATP mitocondrial e estimular o fluxo de substrato através da cadeia respiratória mitocondrial. Adicionar quantidades subestequiométricas de creatina às mitocôndrias isoladas da gordura marrom, coração, rim ou fígado não teve efeito na respiração dependente de ADP(KAZAK *et al.*, 2015).

Além de que, o músculo estriado contém grandes quantidades de creatina, portanto os níveis endógenos de creatina mitocondrial no tecido adiposo bege e marrom foram comparados aos do coração depois que rendimentos comparáveis da organela foram purificados desses tecidos. E o músculo estriado contém uma grande quantidade de creatina, e assim os níveis endógenos de creatina mitocondrial na gordura bege e marrom foram comparados ao coração após a purificação de um rendimento comparável de organelas desses tecidos e foi verificado que os níveis de creatina mitocondrial eram semelhantes entre os tecidos após a purificação, indicando que a falta de um efeito de melhoria da respiração nas mitocôndrias cardíacas não se devia a uma elevada quantidade de creatina endógena. Portanto, esses dados sugerem que a creatina estimula a respiração nas mitocôndrias de gordura bege de maneira subestequiométrica em relação ao ADP, especificamente quando o ADP é limitante, isso colabora com o modelo de ciclagem de substrato mencionado anteriormente(KAZAK *et al.*, 2015).

Em continuidade, para entender a termogênese facilitada pela creatina, foi realizado uma análise para entender se creatina regula o metabolismo oxidativo no tecido adiposo bege ou marrom, usando o ácido  $\beta$ -guanidinopropiônico ( $\beta$ -GPA), um análogo da creatina que está bem estabelecido para inibir o transporte de creatina e reduzir os níveis de creatina em células e tecidos. Dessa forma, os camundongos receberam injeções intraperitoneais diárias com uma dose reduzida de  $\beta$ -GPA ( $0,4 \text{ g kg}^{-1}$ ) durante 4 dias durante a exposição ao frio, o peso corporal e o peso da gordura não foram afetados. Além disso, os níveis de creatina reduziram em 50% no iWAT, BAT e em 15% no músculo gastrocnêmico, enquanto que não houve mudanças na expressão das proteínas envolvidas na respiração mitocondrial. Portanto, para compreender a contribuição da creatina em um nível energético, foi empregado o receptor  $\beta$ 3-adrenérgico CL 316.243 (CL), um conhecido ativador da termogênese e detectaram um aumento de 54% na taxa metabólica de camundongos após a injeção de CL (KAZAK et al., 2015).

Considerando a redução no consumo de oxigênio, foi necessário realizar experimentos para saber quais os tecidos mais afetados pelo  $\beta$ -GPA, para isso, os camundongos foram divididos em quatro grupos: veículo,  $\beta$ -GPA, CL ou CL +  $\beta$ -GPA. Com isso, os resultados mostraram que o grupo  $\beta$ -GPA não exerceu efeito na respiração tecidual na ausência de estímulos termogênicos, enquanto que, os animais tratados com CL apresentaram transdiferenciação(bronzeamento) dos adipócitos que resultou em um aumento de 5 vezes no consumo de oxigênio no iWAT, 33% na respiração BAT, elevação de 9 vezes na respiração PgWAT e nenhum efeito fora do esperado na respiração Gstrc(KAZAK et al., 2015).

Posteriormente, verificou-se a contribuição dos adipócitos beges do iWAT para o metabolismo oxidativo dependente da creatina, utilizando Camundongos com uma deleção adiposa seletiva de Prdm16 (Adipo-PRDM16 KO) interromperam a função adiposa bege. Após 7 dias de exposição ao frio, a redução de creatina com  $\beta$ -GPA diminuiu significativamente o metabolismo oxidativo de iWAT de camundongos Prdm16 lox/lox controle, mas não teve efeito adicional na já reduzida taxa respiratória de iWAT de camundongos Adipo-PRDM16 KO. Sendo assim, utilizando dois modelos de escurecimento/bege,

esses dados demonstram que a redução da creatina atenua o metabolismo oxidativo dos tecidos adiposos termogênicos in vivo (KAZAK *et al.*, 2015).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os artigos revisados neste trabalho trouxeram de maneira enfática a participação e a importância do tecido adiposo para o metabolismo energético, homeostase metabólica e potencial terapêutico para obesidade. Através da ação dos compostos termogênicos estudados, os dados experimentais demonstraram potencial terapêutico para tratar distúrbios metabólicos com atuação nos tecidos adiposos. Dessa forma, esses estudos apresentaram indicadores de que a transdiferenciação de adipócitos brancos maduros ocorreu, como também, a termogênese canônica foi mediada pela ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e pelo aumento da expressão de genes termogênicos como Ucp1 e Pgc1 $\alpha$ . Enquanto que a termogênese não canônica foi mediada pela ativação de vias de sinalização independentes de AMPK, a dieta rica em gordura administrada aos animais promoveu a oxidação mitocondrial de ácidos graxos e a produção de calor, o que contribuiu para o aumento do gasto energético.

Dessa forma, a revisão literária sugeriu que extrato de *Cinnamomum cassia* possui potencial como agente termogênico natural e promove a ativação do BAT, a produção de calor e o aumento do gasto energético em camundongos expostos ao frio. Além disso, os artigos forneceram evidências convincentes de que a BBR pode promover o recrutamento e ativação do BAT e WAT, resultando em aumento do gasto energético e redução do peso corporal. Por outro lado, o tratamento realizado com a cafeína sinalizou que ela pode ser um potencial agente terapêutico para a obesidade e outras doenças metabólicas associadas à redução da atividade da BAT. Ademais, o estudo revisado apresentou indicativos de que a creatina pode aumentar o gasto energético e a termogênese no BAT e no WAT, por meio de um novo ciclo metabólico. Esses resultados demonstram que o CE, a BBR, a cafeína e a creatina pode ser uma nova estratégia terapêutica promissora para combater a obesidade e suas complicações metabólicas. No entanto, são necessários mais estudos para elucidar os mecanismos de ação do CE, BBR e Creatina para confirmar sua eficácia e segurança em humanos.

## REFERÊNCIAS

- AQUILANO, Katia *et al.* Low-protein/high-carbohydrate diet induces AMPK-dependent canonical and non-canonical thermogenesis in subcutaneous adipose tissue. *Redox Biology*, v. 36, 1 set. 2020.
- BARGUT, Thereza Cristina Lonzetti *et al.* *Browning of white adipose tissue: Lessons from experimental models. Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. [S.I.]: Walter de Gruyter GmbH. , 26 jul. 2017
- CHEONG, Lai Yee; XU, Aimin. *Intercellular and inter-organ crosstalk in browning of white adipose tissue: Molecular mechanism and therapeutic complications. Journal of Molecular Cell Biology*. [S.I.]: Oxford University Press. , 1 jul. 2021
- FORBES, Scott C. *et al.* *Effects of Creatine Supplementation on Brain Function and Health. Nutrients*. [S.I.]: MDPI. , 1 mar. 2022
- HARPAZ, Eynav *et al.* *The effect of caffeine on energy balance. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. [S.I.]: Walter de Gruyter GmbH. , 1 jan. 2017
- IZQUIERDO, Andrea G. *et al.* *Leptin, obesity, and leptin resistance: where are we 25 years later? Nutrients*. [S.I.]: MDPI AG. , 1 nov. 2019
- KAZAK, Lawrence *et al.* A Creatine-Driven Substrate Cycle Enhances Energy Expenditure and Thermogenesis in Beige Fat. *Cell*, v. 163, n. 3, p. 643-655, 22 out. 2015.
- KURYŁOWICZ, Alina; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, Monika. Induction of adipose tissue browning as a strategy to combat obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 17, p. 1-28, 1 set. 2020a.
- KURYŁOWICZ, Alina; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, Monika. Induction of adipose tissue browning as a strategy to combat obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 17, p. 1-28, 1 set. 2020b.
- LIN, Ying Chin *et al.* Berberine promotes beige adipogenic signatures of 3t3-l1 cells by regulating post-transcriptional events. *Cells*, v. 8, n. 6, 2019.
- LI, Xiang *et al.* Cinnamomum cassia extract promotes thermogenesis during exposure to cold via activation of brown adipose tissue. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 266, 10 fev. 2021.
- MACHADO, Sabrina Azevedo *et al.* *Browning of the white adipose tissue regulation: new insights into nutritional and metabolic relevance in health and diseases. Nutrition and Metabolism*. [S.I.]: BioMed Central Ltd. , 1 dez. 2022

- MA, Lunkun *et al.* *MicroRNAs as Mediators of Adipose Thermogenesis and Potential Therapeutic Targets for Obesity.* *Biology.* [S.I.]: MDPI. , 1 nov. 2022
- NEDERGAARD, Jan; VON ESSEN, Gabriella; CANNON, Barbara. *Brown adipose tissue: Can it keep us slim? A discussion of the evidence for and against the existence of diet-induced thermogenesis in mice and men.* *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.* [S.I.]: Royal Society Publishing. , 23 out. 2023
- SAAD, M. J.A.; SANTOS, A.; PRADA, P. O. *Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance.* *Physiology.* [S.I.]: American Physiological Society. , 1 jul. 2016
- SAITO, Masayuki *et al.* *Brown Adipose Tissue, Diet-Induced Thermogenesis, and Thermogenic Food Ingredients: From Mice to Men.* *Frontiers in Endocrinology.* [S.I.]: Frontiers Media S.A. , 21 abr. 2020
- SHANKAR, Kripa *et al.* *Role of brown adipose tissue in modulating adipose tissue inflammation and insulin resistance in high-fat diet fed mice.* *European Journal of Pharmacology*, v. 854, p. 354-364, 5 jul. 2019.
- STEINER, Benjamin M.; BERRY, Daniel C. *The Regulation of Adipose Tissue Health by Estrogens.* *Frontiers in Endocrinology.* [S.I.]: Frontiers Media S.A. , 26 maio 2022
- SUCHACKI, Karla J.; STIMSON, Roland H. *Nutritional regulation of human brown adipose tissue.* *Nutrients.* [S.I.]: MDPI AG. , 1 jun. 2021
- VARGAS-CASTILLO, Ariana *et al.* *Understanding the Biology of Thermogenic Fat: Is Browning A New Approach to the Treatment of Obesity?* *Archives of Medical Research.* [S.I.]: Elsevier Inc. , 1 jul. 2017
- WALLIMANN, Theo *et al.* *Role of creatine and creatine kinase in UCP1-independent adipocyte thermogenesis 1.* . [S.I: s.n.], [S.d.].
- WANG, Xiujuan; XU, Meihong; LI, Yong. *Adipose Tissue Aging and Metabolic Disorder, and the Impact of Nutritional Interventions.* *Nutrients.* [S.I.]: MDPI. , 1 ago. 2022
- XIAOXIANG MAO, X *et al.* *Enoyl coenzyme A hydratase 1 combats obesity and related metabolic disorders by promoting adipose tissue browning.* *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 318, p. 318-329, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.6084/>>.

YAU, Winifred W.; YEN, Paul M. *Thermogenesis in adipose tissue activated by thyroid hormone. International Journal of Molecular Sciences*. [S.I.]: MDPI AG. , 2 abr. 2020

YE, Jianping. *Mechanism of insulin resistance in obesity: a role of ATP. Frontiers of Medicine*. [S.I.]: Higher Education Press Limited Company. , 1 jun. 2021

ZHONG, Yi *et al.* PRMT4 Facilitates White Adipose Tissue Browning and Thermogenesis by Methylating PPAR $\gamma$ . *Diabetes*, v. 72, n. 8, p. 1095-1111, 1 ago. 2023.