

CAPÍTULO 6

1

Metabolismo de Lipídeos.

Georgia C. Atella, David Majerowicz e Katia C. Gondim.

Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Copyright: © 2012 [Georgia C. Atella, David Majerowicz e Katia C. Gondim]. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Considerações Iniciais

Nos insetos, como em outros organismos, os lipídeos desempenham diversas funções. Como exemplos, são constituintes de estruturas celulares, atuam como hormônios e formam importantes reservas energéticas, fundamentais em algumas situações de grande demanda metabólica, tais como o vôo e a produção de ovos (Arrese e cols., 2001a). Embora muito se saiba sobre o metabolismo de lipídeos em mamíferos, por exemplo, poucas informações estão disponíveis sobre esses processos nos insetos.

A Utilização dos Lipídeos da Dieta

Durante o processo de digestão, no lúmen intestinal, lipídeos complexos da dieta, como triacilgliceróis e fosfolipídeos, são hidrolisados e ácidos graxos livres são liberados, os quais são absorvidos pelo epitélio intestinal (Canavoso e cols., 2001). Apesar do conhecimento acerca da digestão de lipídeos em insetos ainda ser bastante limitado, especialmente quando se considera a enorme variação nos tipos de alimentação desses organismos (Turunen e Crailsheim, 1996), atividades triacilglicerol-lipásicas digestivas têm sido caracterizadas em diversas espécies (Grillo e cols., 2007; Mrdaković e cols., 2008; Sieber e Thummel, 2009). Além disso, foram também relatadas outras atividades enzimáticas relacionadas à digestão de lipídeos no lúmen do intestino médio, como fosfolipases (Spates e cols., 1990; Stanley e cols., 1998; Weiher e Komnick, 1997) e colesteril éster hidrolases (Komnick e Giesa, 1994).

Os ácidos graxos liberados durante a digestão são absorvidos pelas células do epitélio intestinal, porém informações sobre como esse processo ocorre nos insetos são raras. Uma das proteínas que pode ter papel importante na absorção desses lipídeos é a proteína transportadora de ácidos graxos (FATP). O gene que a codifica em *Aedes aegypti* tem sua expressão aumentada após a alimentação (Sanders e cols., 2003). Dados obtidos em estudos com *Aeshna cyanea* mostraram que as células intestinais absorvem preferencialmente ácido oléico (18:1), seguido pelo ácido palmítico (16:0) e ácido esteárico (18:0) (Kirfel e Komnick, 1999).

Após absorção pelas células do epitélio intestinal, os ácidos graxos são utilizados para a síntese de lipídeos mais complexos, sendo esterificados formando especialmente fosfolipídeos, diacilgliceróis e triacilgliceróis, porém detalhes sobre essas vias metabólicas ainda são desconhecidos (Arrese e cols., 2001a). Os lipídeos devem, então, ser secretados para a hemolinfa a fim de serem distribuídos para todo o organismo. Na hemolinfa, em geral, os principais lipídeos encontrados são os fosfolipídeos e os diacilgliceróis, que são transportados por uma lipoproteína denominada lipoforina, a qual recebe os lipídeos fornecidos pelo intestino (Soulages e Wells, 1994b), como será discutido no próximo item. Esse processo de digestão, absorção, metabolização e transporte de triacilgliceróis da dieta foi estudado em insetos de hábitos alimentares muito diferentes, como as larvas da mariposa *Manduca sexta* e os hemípteros hematófagos *Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus* (fêmeas

adultas), e resultados muito parecidos foram obtidos (Canavoso e cols., 2004a; Canavoso e Wells, 2000; Grillo e cols., 2007).

É interessante observar que os insetos não são capazes de sintetizar esteróides *de novo* (Clark e Block, 1959). Portanto, eles dependem da utilização de esteróides encontrados na dieta para a obtenção dos seus próprios, como colesterol e outros, incluindo os hormônios ecdsteróides. Esses lipídeos devem ser absorvidos pelo intestino e convertidos em outros, de acordo com as necessidades e as dietas de cada espécie. Em larvas de *M. sexta* e naiades de *A. cyanea*, por exemplo, foi acompanhada a incorporação de colesterol da alimentação pelo intestino médio, como também o seu transporte na hemolinfa associado à lipoforina, que o distribui aos órgãos que o utilizam, como corpo gorduroso, nas larvas, pupas e adultos, e posteriormente, nesses últimos, aos ovócitos (Jouni e cols., 2002a; Jouni e cols., 2002b; Komnick e Giesa, 1994; Yun e cols., 2002).

A Lipoforina e o Transporte de Lipídeos

Nos insetos, os lipídeos são transportados entre os diferentes órgãos associados à principal lipoproteína hemolinfática, a lipoforina (Lp) (Chino e cols., 1981). Diferentemente dos mamíferos, onde o transporte de lipídeos é feito por diversas lipoproteínas, nos insetos a Lp desempenha sozinha esse papel, transportando as diversas classes entre os vários órgãos (Chino e Takahashi, 1985; Soulages e Wells, 1994b). Essa lipoproteína atua como uma acceptora de lipídeos, recebendo-os dos tecidos, e também como doadora, isto é, fornecendo lipídeos a eles. Ela é composta por duas apolipoproteínas, apolipoforinas I e II (ApoLp-I e II), de massas em torno de 240 e 80 kDa, respectivamente, que são sempre encontradas na razão molar de 1:1 (Ryan e Van der Horst, 2000; Soulages e Wells, 1994b). Uma terceira apolipoproteína (ApoLp-III; 18 - 20 kDa), pode estar presente ou não, em número variável, de acordo com a espécie e com a situação fisiológica do inseto, como o vôo, por exemplo (Gondim e cols., 1989a; Ryan e Van der Horst, 2000; Soulages e Wells, 1994a). A Lp apresenta em sua composição diversas classes de lipídeos, tanto fosfolipídeos como lipídeos neutros. Os fosfolipídeos normalmente representam algo em torno de 15 a 25 % dos lipídeos totais da partícula, mas exemplos de Lps com percentuais maiores ou menores dessas moléculas também são encontrados. Entre os lipídeos neutros, na grande maioria dos casos os diacilgliceróis são os mais abundantes, com proporções que costumam variar entre 12 e 22 % dos lipídeos totais da lipoproteína. Colesterol (livre ou esterificado a ácidos graxos), ácidos graxos, hidrocarbonetos e triacilgliceróis também são encontrados, geralmente em menores quantidades (Blacklock e Ryan, 1994; Chino e Takahashi, 1985; Soulages e Wells, 1994b).

É interessante observar que as diversas classes de lipídeos não apenas fazem parte da estrutura da Lp, mas são efetivamente transportados entre os vários órgãos. Já foi demonstrado o transporte, por essa lipoproteína, de diacilgliceróis (Chino e cols., 1969; Oliveira e cols., 2006; Van der Horst e cols., 1981), que é o sistema melhor conhecido, fosfolipídeos (Atella e cols., 1992, , 1995; Oliveira e cols., 2006), hidrocarbonetos (Fan e cols., 2004; Schal e cols., 2001; Young e cols., 1999), colesterol (Chino e Gilbert, 1971; Jouni e cols., 2002a) e ácidos graxos (Atella e cols., 2000;

Soulages e Wells, 1994c), entre a Lp circulante e os sítios de síntese, utilização e armazenamento desses lipídeos. Além disso, moléculas hidrofóbicas, como precursores de feromônios, também podem ser transportados pela Lp (Matsuoka e cols., 2006).

De acordo com a quantidade de lipídeos associados à Lp, ela pode apresentar variações na sua densidade, e algumas classes foram então definidas (Beenackers e cols., 1988): HDLp (lipoforina de alta densidade), de 1,09 a 1,18 g/ml; VHDLp (lipoforina de muito alta densidade), de 1,24 a 1,27 g/ml; e LDLp (lipoforina de baixa densidade), de 1,02 a 1,07 g/ml. Em um mesmo inseto, a densidade da Lp circulante pode variar de acordo com a situação, como ocorre durante o vôo, por exemplo, quando é formada uma grande proporção de LDLp na hemolinfa de alguns insetos que fazem vôos prolongados (Van der Horst e Rodenburg, 2010), o que será discutido mais adiante nesse capítulo.

Uma característica marcante do sistema de transporte de lipídeos nos insetos é o fato de, geralmente, a Lp atuar como uma transportadora reutilizável de lipídeos. Ou seja, a Lp fornece os lipídeos ao órgão receptor sem que a parte proteica da lipoproteína seja acumulada e degradada, podendo ser reabastecida e reutilizada. A primeira indicação nesse sentido foi obtida no gafanhoto *Locusta migratoria*, quando Downer e Chino mostraram que a meia-vida do diacilglicerol da partícula da Lp hemolinfática era bem menor que a das suas apoproteínas (Downer e Chino, 1985). Esses resultados foram então confirmados com a demonstração de que nesse mesmo gafanhoto a Lp entrega os lipídeos aos músculos de vôo, podendo ser reabastecida (Van Heusden e cols., 1987), sendo a lipoproteína encontrada apenas associada à superfície da célula muscular (Van Antwerpen e cols., 1988). Também no inseto hematófago *R. prolixus* foi demonstrado, inicialmente por análise por eletroforese em gel de poliacrilamida do conteúdo dos ovócitos, e depois por imunocitoquímica, que a partícula de Lp é encontrada apenas na superfície dos ovócitos, e não no seu interior (Gondim e cols., 1989b; Machado e cols., 1996). Para a mosca da fruta *Drosophila melanogaster*, os resultados também indicaram que a absorção de lipídeos neutros pelos ovócitos ocorre por um mecanismo independente de endocitose (Parra-Peralbo e Culi, 2011). No entanto, alguns resultados diferentes têm sido também encontrados. Em *L. migratoria* foi observada a incorporação da Lp circulante na hemolinfa por endocitose mediada por receptor, em corpos gordurosos de adultos jovens (Dantuma e cols., 1997) e, posteriormente, quando o receptor de Lp foi expresso em células de mamíferos em cultura, pode-se acompanhar a endocitose e reciclagem, tanto da Lp como do seu receptor, de modo semelhante ao que ocorre nessas células com a proteína transferrina (Van Hoof e cols., 2002). Entretanto, em corpos gordurosos desses insetos, ainda não é possível afirmar com certeza se, após endocitose, a Lp é também reciclada, voltando para a hemolinfa (Van Hoof e cols., 2005). Inclusive, em células de insetos em cultura, expressando o receptor de transferrina de mamífero, nem mesmo essa proteína foi reciclada após sua endocitose, como acontece nos mamíferos (Van Hoof e cols., 2005).

Nas mariposas *Hyalophora cecropia* e *M. sexta*, lipoforina é encontrada em quantidades significativas no interior dos ovócitos, indicando que nos lepidópteros essa lipoproteína pode ser incorporada pelos ovócitos em crescimento, formando parte do vitelo, e não apenas transferindo lipídeos (Kawooya e cols., 1988; Telfer e Pan, 1988). No caso da *M. sexta* demonstrou-se que os dois processos acontecem (Kawooya e

Law, 1988; Kawooya e cols., 1988), o que também ocorre no barbeiro *P. megistus* (Fruttero e cols., 2011). No mosquito *A. aegypti*, Lp também é encontrada no interior dos ovócitos. Entretanto, a quantidade de Lp detectada não é suficiente para explicar todo o lipídeo presente nessas células, o que indica que outro mecanismo deve também estar presente, que permita que a Lp transfira lipídeos sem a incorporação de toda a partícula, como acontece em outras espécies e/ou órgãos (Jouni e cols., 2002b; Sun e cols., 2000; Ziegler e Van Antwerpen, 2006).

Uma segunda lipoproteína, chamada partícula transferidora de lipídeos (LTP), foi descrita em vários insetos (Fig. 1) e está envolvida no transporte de lipídeos entre Lp de diferentes densidades e entre a Lp e os órgãos (Golodne e cols., 2001; Hirayama e Chino, 1990; Ryan e cols., 1986; Takeuchi e Chino, 1993). Essa lipoproteína parece participar da transferência de diacilgliceróis entre o corpo gorduroso e o intestino, e a lipoforina (Canavoso e Wells, 2001; Canavoso e cols., 2004b; Van Heusden e Law, 1989), como também do acúmulo de diacilgliceróis nos ovócitos em crescimento (Jouni e cols., 2003; Liu e Ryan, 1991).

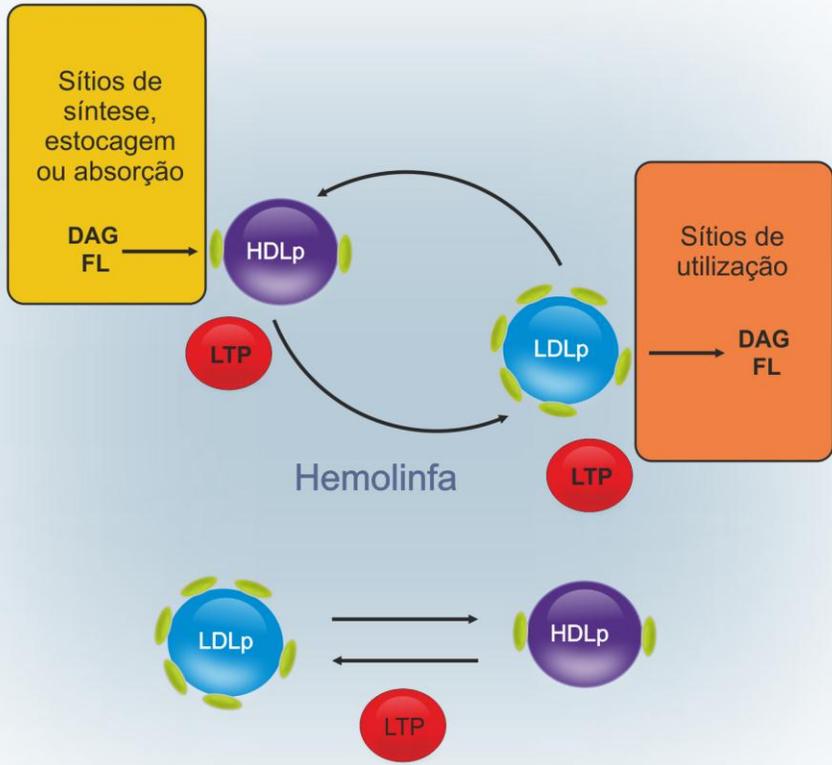


Figura 1. Esquema da participação da LTP na transferência de lipídeos. DG: diacilglicerol; FL: fosfolipídeos; LTP: partícula transferidora de lipídeos; LDLp: lipoforina de baixa densidade; HDLp: lipoforina de alta densidade.

Corpo Gorduroso: Local de Armazenamento de Lipídeos.

Nos insetos, o corpo gorduroso é um órgão central para o metabolismo. Sintetiza diversas proteínas e atua também como local de armazenamento de carboidratos, proteínas e lipídeos (Arrese e Soulages, 2010). Na mariposa *M. sexta*, durante o crescimento da lagarta, o corpo gorduroso estoca enormes quantidades de lipídeos, que serão utilizados, depois, pelo inseto adulto (Fernando-Warnakulasuriya e cols., 1988; Ziegler, 1991), como substrato para o vôo e durante a ovogênese (temas que serão discutidos mais adiante nesse capítulo). No barbeiro *R. prolixus*, após a alimentação do inseto adulto com sangue, pode-se observar um acúmulo de lipídeos no corpo gorduroso. Vários dias depois, quando o intestino já se encontra quase vazio, e a digestão próxima do fim, essas reservas começam a ser utilizadas e a quantidade de lipídeos diminui gradativamente (Pontes e cols., 2008). Há evidências de que parte dos lipídeos armazenados no corpo gorduroso das fêmeas adultas de *R. prolixus* sejam transferidos à Lp circulante e direcionados aos ovários em crescimento (Atella e cols., 1992; Coelho e cols., 1997). No grilo *Gryllus bimaculatus*, o último estágio de ninfa acumula grande quantidade de lipídeos até o quinto dia após a eclosão, quando as reservas começam a diminuir progressivamente (Anand e Lorenz, 2008). Já outra espécie da mesma Ordem (*Troglophilus neglectus*) acumula lipídeos no corpo gorduroso como reserva energética para o período de hibernação (Lipovšek e cols., 2011).

Além de acumular lipídeos provenientes da dieta, o corpo gorduroso também é capaz de sintetizar ácidos graxos *de novo* (Arrese e Soulages, 2010). O corpo gorduroso das mariposas *M. sexta* e *Bombyx mori* incorpora acetato e o metaboliza em triacilglicerol (Arrese e cols., 2001b; Sridhara e Bhat, 1965). No grilo *G. bimaculatus*, a síntese de lipídeos, medida pela incorporação de acetato e pela atividade da enzima ácido graxo sintase (FAS), varia durante o desenvolvimento do inseto (Anand e Lorenz, 2008; Lorenz, 2001; Lorenz e Anand, 2004). Uma atividade acetil-CoA carboxilásica também foi detectada no corpo gorduroso da mosca *Glossina morsitans* (Goldring e Read, 1994).

De modo semelhante ao tecido adiposo de mamíferos, os lipídeos são armazenados no corpo gorduroso dos insetos como triacilgliceróis, em gotículas de lipídeos (Arrese e Soulages, 2010). Para que ocorra a mobilização dessas reservas, é necessária a atuação de uma triacilglicerol lipase, enzima que hidrolisa os triacilgliceróis liberando principalmente ácidos graxos e diacilglicerol, sendo esses últimos, então, transferidos para a Lp hemolinfática, a qual os transporta para os locais de utilização (Canavoso e cols., 2001). A atividade triacilglicerol lipásica do corpo gorduroso já foi identificada em diferentes modelos (Auerswald e Gäde, 2006; Auerswald e cols., 2005; Gäde e cols., 2006).

Duas diferentes triacilglicerol lipases foram principalmente investigadas no corpo gorduroso de insetos a nível molecular: a triglicerídeo lipase (TGL) (Arrese e Wells, 1994) e a lipase Brummer (Grönke e cols., 2005). A TGL já foi purificada do corpo gorduroso de *M. sexta* e sua sequência codificante foi identificada (Arrese e cols., 2010;

Arrese e Wells, 1994). Essa enzima foi bem caracterizada, tendo sido demonstrado que a enzima purificada pode sofrer fosforilação por uma proteína quinase A (Arrese e Wells, 1994). No entanto, essa fosforilação não resultou em aumento na atividade enzimática (Patel e cols., 2004), o que indicou que os insetos podem ter um mecanismo de regulação da atividade da TGL do corpo gorduroso semelhante ao da enzima de tecido adiposo dos mamíferos, a lipase sensível a hormônio (HSL). Nesses, a fosforilação da enzima resulta na sua translocação para as gotículas de lipídeos, o que, junto com alterações em outras proteínas associadas, leva a um aumento da lipólise no tecido (Su e cols., 2003). De fato, a mobilização das reservas estocadas no corpo gorduroso de *M. sexta* depende da ativação das gotículas de lipídeos (Patel e cols., 2006; Patel e cols., 2005). A lipase Brummer foi identificada em *D. melanogaster*, sendo que moscas mutantes para esse gene são obesas, tendo dificuldade para mobilizar as reservas lipídicas estocadas no corpo gorduroso (Beller e cols., 2008; Grönke e cols., 2005).

Em mamíferos, têm sido descritas outras proteínas associadas às gotículas de lipídeos, envolvidas nos processos de formação e utilização dessas reservas, como a perilipina, ADRP e TIP47 (Wang e cols., 2008b). Nos insetos, parece que proteínas semelhantes estão envolvidas com o controle do acúmulo e utilização de lipídeos. Em *D. melanogaster* foram identificadas proteínas relacionadas àquelas dos mamíferos, que foram encontradas associadas às gotículas de lipídeos e que foram denominadas LSD (“lipid storage droplets”) (Beller e cols., 2008; Grönke e cols., 2003; Miura e cols., 2002). Moscas mutantes para o gene LSD-2 têm dificuldade para estocar lipídeos no corpo gorduroso, mesmo alimentadas com dieta rica em gordura, indicando que as LSD têm papel na formação das gotículas de lipídeos (Beller e cols., 2006; Fauny e cols., 2005; Grönke e cols., 2003). Por outro lado, moscas que não expressam o gene PLIN1 (homólogo à perilipina dos mamíferos) são hiperfágicas e obesas, indicando que essa proteína tem papel na regulação da utilização dos estoques de gordura (Beller e cols., 2010). Na mariposa *M. sexta*, a fosforilação da LSD-1 presente nas gotículas regula a atividade da lipase e a mobilização dos lipídeos estocados (Arrese e cols., 2008; Patel e cols., 2005).

O Desenvolvimento dos Ovócitos: Lipídeos são Necessários, e Muito!

Os insetos, na maioria dos casos, conseguem produzir um grande número de ovos em cada ciclo de postura. Para o crescimento dos ovócitos é preciso que haja o acúmulo de uma grande quantidade de reservas (proteínas, carboidratos e lipídeos), que serão necessárias durante o desenvolvimento do embrião. Alguns dados, obtidos com *M. sexta* e com *A. aegypti*, mostraram que os ovários fazem pouca síntese *de novo* de lipídeos (Kawooya e Law, 1988; Lorenz e Anand, 2004; Ziegler, 1997), ou seja, as reservas lipídicas devem ser formadas a partir da incorporação de lipídeos da hemolinfa ou, mais especificamente, da Lp circulante (Fig. 2). A vitelogenina, proteína da hemolinfa que é incorporada pelos ovócitos em crescimento, quando passa a ser denominada vitelina, contém lipídeos em sua estrutura, porém esses são em quantidade muito abaixo da encontrada nos ovócitos (Chino e cols., 1977). Portanto, as reservas lipídicas dos ovos são provenientes basicamente da Lp, e são constituídas

principalmente por triacilgliceróis (Santos e cols., 2011; Sawabe e Moribayashi, 2000; Ziegler e Van Antwerpen, 2006), como acontece também no corpo gorduroso, conforme descrito acima. Como quase sempre a Lp transporta uma grande proporção de diacilgliceróis, eles são a principal fonte de ácidos graxos para a síntese dos triacilgliceróis acumulados (Atella e cols., 2006; Jouni e cols., 2003; Santos e cols., 2011). Os diacilgliceróis devem sofrer a ação de uma lipoproteína lipase, cuja presença já foi demonstrada nos ovócitos da mariposa *M. sexta* (Van Antwerpen e cols., 1998), e que provavelmente localiza-se na membrana celular, liberando ácidos graxos que, após incorporação pela célula, devem ser usados para a síntese de triacilgliceróis. Esse processo de formação de reservas lipídicas nos ovócitos, utilizando diacilglicerol e ácidos graxos livres fornecidos pela Lp hemolinfática foi mostrado em *R. prolixus* (Santos e cols., 2011).

A transferência de lipídeos da Lp para os ovários tem uma particularidade, que é o fato de algumas espécies de insetos apresentarem mecanismos diferentes para isso. Em algumas espécies são encontradas quantidades significativas de Lp (parte proteica) no interior dos ovócitos (Atella e cols., 2006; Ciudad e cols., 2007; Fruttero e cols., 2011), o que não é observado no barbeiro *R. prolixus* (Gondim e cols., 1989b; Machado e cols., 1996). Foi demonstrado que a Lp é endocitada pelos ovócitos em desenvolvimento sendo armazenada no interior dos grânulos de vitelo (Atella e cols., 2006; Fruttero e cols., 2011; Sun e cols., 2000).

A presença das apoproteínas da Lp nos ovócitos não seria esperada se considerarmos a Lp como uma transportadora reutilizável de lipídeos, e essa questão foi, então, bastante explorada na mariposa *M. sexta*. Nesse inseto, ficou claramente demonstrada a coexistência de dois mecanismos diferenciados para a incorporação de lipídeos pelos ovários. Como o adulto desse inseto pode apresentar lipoforinas de densidades diferentes na hemolinfa (HDLp e LDLp), ambas as populações podem contribuir com lipídeos para os ovócitos. Quando a LDLp transfere os lipídeos, as apoproteínas da partícula não são acumuladas no interior dos ovócitos (Kawooya e Law, 1988). Entretanto, quando a HDLp interage com os ovócitos, a lipoproteína inteira é incorporada, uma vez que a sua parte proteica é encontrada nos ovócitos, porém com uma densidade maior, na forma de VHDLp, indicando que a partícula teve parte de seus lipídeos removida (Kawooya e cols., 1988). Entretanto, os autores estimaram a partir desses dados, que a transferência de lipídeos da LDLp para os ovários é o mecanismo responsável pelo acúmulo de cerca de 90% dos lipídeos dos ovócitos (Kawooya e Law, 1988).

O transporte de outra classe de lipídeos para os ovários, os fosfolipídeos, foi analisado em *R. prolixus*. Durante o processo de ovogênese, a Lp transfere fosfolipídeos para os ovócitos, sem que haja acúmulo da parte proteica (Gondim e cols., 1989b). A capacidade dos ovócitos de incorporar fosfolipídeos da Lp varia de acordo com o seu desenvolvimento (Gondim e cols., 1989b), e de forma semelhante à variação observada na endocitose de vitelogenina (Oliveira e cols., 1986).

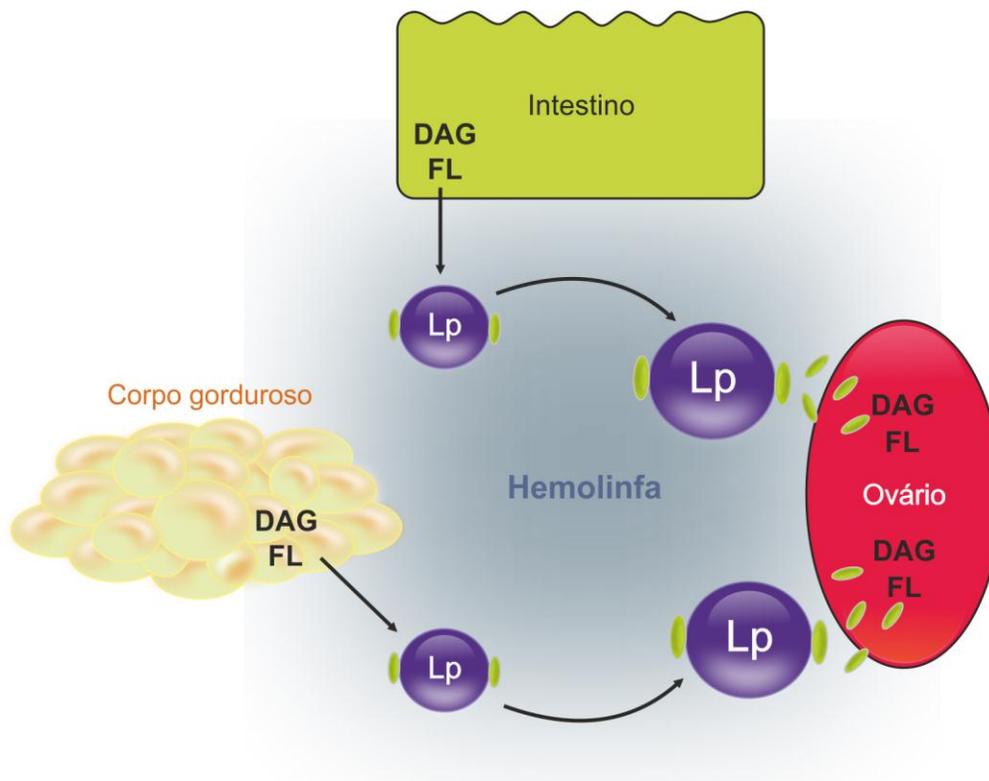


Figura 2. Esquema do Transporte de Lipídeos durante a Ovogênese. DG: diacilglicerol; FL: fosfolipídeos; Lp: lipoforina.

Metabolismo de Lipídeos Durante o Vôo

O vôo dos insetos é um dos processos fisiológicos com as taxas metabólicas mais elevadas da natureza. Apesar disto, este modelo é relativamente simples para o estudo dos processos chave em bioquímica e fisiologia que envolvem mobilização e transporte de nutrientes. Insetos que efetuam vôo prolongado, como *M. sexta* e *L. migratoria*, têm sido muito utilizados para a compreensão da dramática demanda energética dos músculos de vôo (Van der Horst e Rodenburg, 2010).

Nos músculos de vôo, os diacilgliceróis da Lp são hidrolisados por uma lipoproteína lipase (Wheeler e Goldsworthy, 1985), sendo que a Lp aparentemente não é endocitada no processo (Van Antwerpen e cols., 1988). Os ácidos graxos liberados se associam à FABP que leva esses lipídeos até as fibras musculares, onde serão utilizados para a produção de ATP para a contração muscular via β -oxidação (Van der Horst e cols., 1993). Com a remoção dos diacilgliceróis da LDLp, esta se converte em HDLp, liberando as moléculas de apoLp-III (Fig. 3). A HDLp pode retornar ao corpo gorduroso e ser reabastecida com mais diacilgliceróis (Van der Horst e Rodenburg, 2010).

Outros trabalhos mostraram que, além dos diacilgliceróis, os fosfolipídios podem ser entregues pela lipoforina aos músculos de vôo (Oliveira e cols., 2006; Thomas e Gilbert, 1967) e esta pode ser reabastecida no corpo gorduroso e intestino médio (Atella e cols., 1992, 1995). Estes resultados confirmam a hipótese de que a lipoforina atua como um veículo reutilizável tanto para diacilgliceróis como para fosfolipídios.

O vôo exaustivo em *R. prolixus* promove um aumento da densidade da lipoforina em relação ao repouso com concomitante diminuição da sua massa molecular (Oliveira e cols., 2006). De forma diferente, no barbeiro *P. megistus* o vôo promove uma diminuição da densidade da lipoforina associada a um aumento no conteúdo lipídico da partícula de modo a prover o exercício prolongado (Canavoso e cols., 2003). Resultado semelhante foi observado durante o vôo de espécies migratórias de longa distância (Surholt e cols., 1991; Surholt e cols., 1992). Nestes insetos, há uma predominância da LDLp, isto é, a lipoforina encontra-se com o seu conteúdo lipídico aumentado durante a maior parte do exercício a fim de suprir a intensa demanda energética dos músculos de vôo.

Estes experimentos demonstraram que o vôo promove uma maior mobilização de lipídios para os músculos de vôo. Além disso, o vôo provoca uma diminuição no transporte de lipídios pela lipoforina para os ovários. Como a produção de ovos requer um constante suprimento de lipídios e proteínas, isso indica que existe uma relação antagônica entre o vôo e a ovogênese. De fato, observou-se que o vôo prolongado de algumas espécies de insetos pode provocar vários efeitos negativos na reprodução, tais como retardo no desenvolvimento ou mesmo atrofia dos ovários, atraso da primeira oviposição e diminuição do número de ovos corionados (Johnson, 1963; Lorenz, 2007; Oliveira e cols., 2006). Com estas observações Kennedy cunhou o termo Síndrome vôo-ovogênese.

Transporte Intracelular de Lipídeos

Até esse ponto, viemos discutindo diversos pontos do metabolismo de lipídeos em insetos, tentando relacioná-los com o transporte entre os órgãos, realizado pela Lp hemolinfática, de acordo com as necessidades do animal. Entretanto, existe outra questão, que diz respeito ao transporte através da membrana plasmática, para entrar ou sair da célula, e também ao tráfego entre organelas e permanência no citossol. Diferentemente do transporte hemolinfático pela Lp, esses transportadores celulares dos insetos são ainda muito pouco conhecidos.

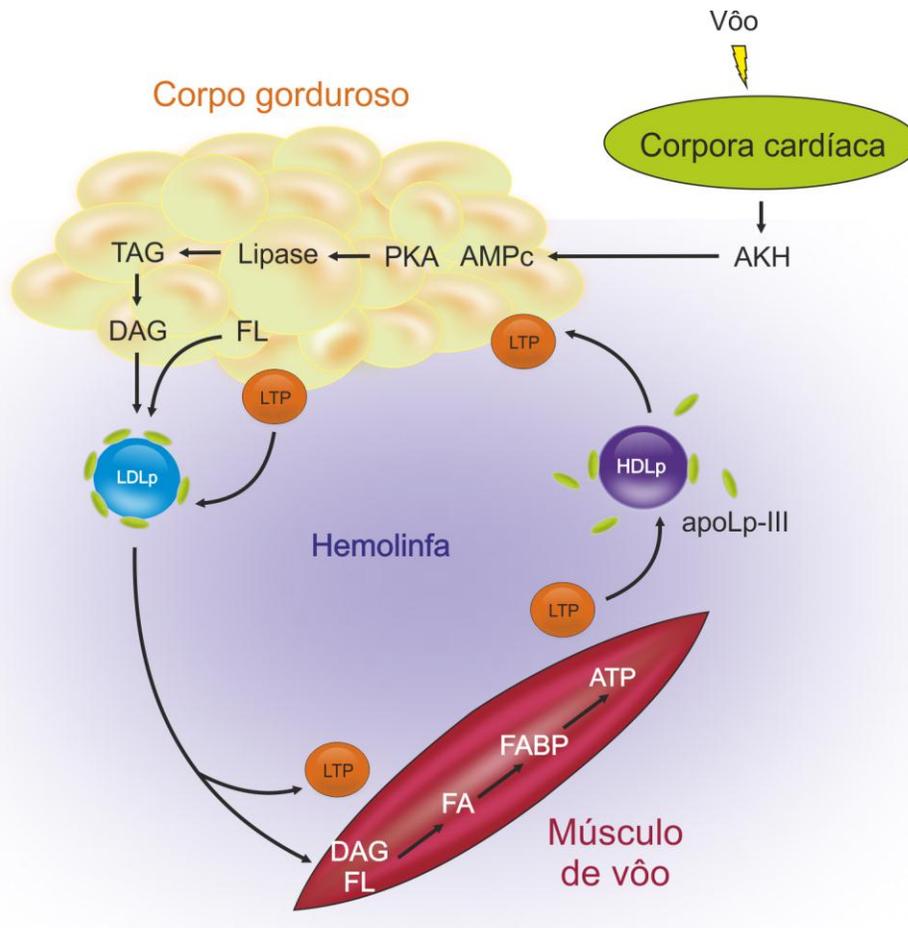


Figura 3. Esquema do Transporte de Lipídios durante o Voo dos Insetos. AKH: hormônio adipocinético; AMPc: AMP cíclico; PKA: proteína cinase dependente de AMPc; TG: triacilglicerol; DG: diacilglicerol; FL: fosfolipídios; LTP: partícula transferidora de lipídios; LDLp: lipoforina de baixa densidade; FA: ácido graxo; FABP: proteína ligadora de ácidos graxos; HDLp: lipoforina de alta densidade; apoLp-III: apolipoproteína III.

Como já comentado no início desse capítulo, os insetos sintetizam os seus esteróides a partir dos que são encontrados na alimentação, uma vez que não fazem a sua síntese *de novo* (Clark e Block, 1959). Já foi demonstrado em algumas espécies que colesterol proveniente da dieta é absorvido pelo intestino médio e distribuído, então, através da hemolinfa, aos diversos tecidos (Chino e Gilbert, 1971; Komnick e Giesa, 1994; Yun e cols., 2002). Além disso, proteínas da família SCP (sterol Carrier protein) foram identificadas em alguns insetos (Dyer e cols., 2009; Gong e cols., 2006;

Guo e cols., 2009; Kim e Lan, 2010; Krebs e Lan, 2003; Lan e Wessely, 2004; Takeuchi e cols., 2004; Vyazunova e cols., 2007). As SCPs apresentam um domínio de transferência de colesterol altamente conservado e são capazes de ligar colesterol, e também ácidos graxos, com grande afinidade (Kim e Lan, 2010; Vyazunova e cols., 2007).

No citossol, ácidos graxos também podem-se ligar à FABP (proteína ligadora de ácidos graxos). Nos insetos, as FABPs foram identificadas na mariposa *M. sexta*, no gafanhoto *Schistocerca gregaria*, no barbeiro *Dipetalogaster maximus* e na vespa *Aphidius ervi* (Cavagnari e cols., 2000; Falabella e cols., 2005; Haunerland e Chisholm, 1990; Smith e cols., 1992). A FABP é capaz de ligar ácidos graxos com grande afinidade, com Kd para ácido oléico na faixa nanomolar (Falabella e cols., 2005; Maatman e cols., 1994).

Outra proteína também já identificada e estudada em alguns insetos, envolvida com o transporte intracelular de lipídeos, é a ACBP (proteína ligadora de acil-CoA), que apresenta a capacidade de ligar ácidos graxos de cadeia longa, saturados ou insaturados, esterificados à coenzima A, com alta afinidade (Faergeman e cols., 2007). Nos insetos, ela foi inicialmente identificada em *M. sexta*, mas está presente em todas as espécies da classe analisadas (Alves-Bezerra e cols., 2010; Kolmer e cols., 1994; Liu e cols., 2005; Matsumoto e cols., 2001; Sieglaff e cols., 2005; Snyder e Feyereisen, 1993). A ACBP apresenta alta expressão no intestino, corpo gorduroso e ovários (Alves-Bezerra e cols., 2010; Kolmer e cols., 1994; Snyder e Feyereisen, 1993; Wang e cols., 2008a). Além disso, sua transcrição é regulada durante os períodos de maior transporte de lipídeos no intestino, o que indica que essa proteína deve ter um papel importante no metabolismo dessas substâncias (Alves-Bezerra e cols., 2010; Snyder e Van Antwerpen, 1997).

Considerações Finais

Em todos os pontos discutidos acima, seja em relação à digestão, absorção, metabolização ou utilização dos lipídeos, percebe-se que muitos aspectos ainda são pouco estudados ou desconhecidos. O sequenciamento do genoma de insetos modelos para o estudo de genética, como os do gênero *Drosophila*, ou de entomologia médica, como os mosquitos *A. aegypti* e *A. gambiae*, trouxe poucos avanços na área de fisiologia. Porém, o sequenciamento do genoma de insetos tradicionalmente utilizados como modelos no estudo de diversas situações fisiológicas, como *Tribolium castaneum*, *A. mellifera* e *R. prolixus*, promete elevar a possibilidade de investigações em relação ao metabolismo de lipídeos a um nível acima em complexidade. As enzimas envolvidas na síntese de glicerofosfolipídeos e as proteínas responsáveis pela absorção intestinal de ácidos graxos e colesterol são praticamente desconhecidas. Também são escassas as informações sobre o mecanismo de carregamento da Lp no intestino e corpo gorduroso. Do mesmo modo, o envolvimento da endocitose a Lp no abastecimento/entrega de lipídeos permanece pouco compreendido. A investigação desses pontos-chave somada à possibilidade de entender como esses processos são regulados, a nível transcricional ou proteômico, são os desafios futuros para o estudo do metabolismo de lipídeos em insetos.

Referências Bibliográficas

- Alves-Bezerra, M., Majerowicz, D., Grillo, L.A., Tremonte, H., Almeida, C.B., Braz, G.R., Sola-Penna, M., Paiva-Silva, G.O., Gondim, K.C., 2010. Serotonin regulates an acyl-CoA-binding protein (ACBP) gene expression in the midgut of *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40, 119-125.
- Anand, A.N., Lorenz, M.W., 2008. Age-dependent changes of fat body stores and the regulation of fat body lipid synthesis and mobilisation by adipokinetic hormone in the last larval instar of the cricket, *Gryllus bimaculatus*. *J. Insect Physiol.* 54, 1404-1412.
- Arrese, E.L., Canavoso, L.E., Jouni, Z.E., Pennington, J.E., Tsuchida, K., Wells, M.A., 2001a. Lipid storage and mobilization in insects: current status and future directions. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31, 7-17.
- Arrese, E.L., Gazard, J.L., Flowers, M.T., Soulages, J.L., Wells, M.A., 2001b. Diacylglycerol transport in the insect fat body: evidence of involvement of lipid droplets and the cytosolic fraction. *J. Lipid Res.* 42, 225-234.
- Arrese, E.L., Howard, A.D., Patel, R.T., Rimoldi, O.J., Soulages, J.L., 2010. Mobilization of lipid stores in *Manduca sexta*: cDNA cloning and developmental expression of fat body triglyceride lipase, TGL. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40, 91-99.
- Arrese, E.L., Rivera, M., Hamada, M., Mirza, S., Hartson, S.D., Weintraub, S., Soulages, J.L., 2008. Function and structure of lipid storage droplet protein 1 studied in lipoprotein complexes. *Arch. Biochem. Biophys.* 473, 42-47.
- Arrese, E.L., Soulages, J.L., 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu. Rev. Entomol.* 55, 207-225.
- Arrese, E.L., Wells, M.A., 1994. Purification and properties of a phosphorylatable triacylglycerol lipase from the fat body of an insect, *Manduca sexta*. *J. Lipid Res.* 35, 1652-1660.
- Atella, G.C., Arruda, M.A.B.C.F., Masuda, H., Gondim, K.C., 2000. Fatty acid incorporation by *Rhodnius prolixus* midgut. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 43, 99-107.
- Atella, G.C., Gondim, K.C., Masuda, H., 1992. Transfer of phospholipids from fat body to lipophorin in *Rhodnius prolixus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 19, 133-144.
- Atella, G.C., Gondim, K.C., Masuda, H., 1995. Loading of lipophorin particles with phospholipids at the midgut of *Rhodnius prolixus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 30, 337-350.
- Atella, G.C., Silva-Neto, M.A., Golodne, D.M., Arefin, S., Shahabuddin, M., 2006. *Anopheles gambiae* lipophorin: characterization and role in lipid transport to developing oocyte. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 36, 375-386.
- Auerswald, L., Gäde, G., 2006. Endocrine control of TAG lipase in the fat body of the migratory locust, *Locusta migratoria*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 36, 759-768.
- Auerswald, L., Siegert, K.J., Gäde, G., 2005. Activation of triacylglycerol lipase in the fat body of a beetle by adipokinetic hormone. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35, 461-470.
- Beenackers, A.M.T., Chino, H., Law, J.H., 1988. Lipophorin nomenclature. *Insect Biochem.* 18, 1-2.

- Beller, M., Bulankina, A.V., Hsiao, H.H., Urlaub, H., Jäckle, H., Kühnlein, R.P., 2010. PERILIPIN-dependent control of lipid droplet structure and fat storage in *Drosophila*. *Cell Metab.* 12, 521-532.
- Beller, M., Riedel, D., Jänsch, L., Dieterich, G., Wehland, J., Jäckle, H., Kühnlein, R.P., 2006. Characterization of the *Drosophila* lipid droplet subproteome. *Mol. Cell. Proteomics* 5, 1082-1094.
- Beller, M., Sztalryd, C., Southall, N., Bell, M., Jäckle, H., Auld, D.S., Oliver, B., 2008. COPI complex is a regulator of lipid homeostasis. *PLoS Biol.* 6, 292.
- Blacklock, B.J., Ryan, R.O., 1994. Hemolymph lipid transport. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24, 855-873.
- Canavoso, L.E., Frede, S., Rubiolo, E.R., 2004a. Metabolic pathways for dietary lipids in the midgut of hematophagous *Panstrongylus megistus* (Hemiptera : Reduviidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.* 34, 845-854.
- Canavoso, L.E., Jouni, Z.E., Karnas, K.J., Pennington, J.E., Wells, M.A., 2001. Fat metabolism in insects. *Annu. Rev. Nutr.* 21, 23-46.
- Canavoso, L.E., Stariolo, R., Rubiolo, E.R., 2003. Flight metabolism in *Panstrongylus megistus* (Hemiptera : Reduviidae): the role of carbohydrates and lipids. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98, 909-914.
- Canavoso, L.E., Wells, M.A., 2000. Metabolic pathways for diacylglycerol biosynthesis and release in the midgut of larval *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 30, 1173-1180.
- Canavoso, L.E., Wells, M.A., 2001. Role of lipid transfer particle in delivery of diacylglycerol from midgut to lipophorin in larval *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31, 783-790.
- Canavoso, L.E., Yun, H.K., Jouni, Z.E., Wells, M.A., 2004b. Lipid transfer particle mediates the delivery of diacylglycerol from lipophorin to fat body in larval *Manduca sexta*. *J. Lipid Res.* 45, 456-465.
- Cavagnari, B.M., Scaraffia, P.Y., Haller, J.F., Gerez De Burgos, N.M., Santomé, J.A., 2000. Presence of a fatty acid-binding protein and lipid stores in flight muscles of *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera: Reduviidae). *J. Med. Entomol.* 37, 938-944.
- Chino, H., Downer, R.G.H., Takahashi, K., 1977. The role of diacylglycerol carrying lipoprotein I in lipid transport during insect vitellogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 487, 508-516.
- Chino, H., Downer, R.G.H., Wyatt, G.R., Gilbert, L.I., 1981. Lipophorins, a major class of lipoproteins of insect hemolymph. *Insect Biochem.* 11, 491.
- Chino, H., Gilbert, L.I., 1971. Uptake and transport of cholesterol by haemolymph lipoproteins. *Insect Biochem.* 1, 337-347.
- Chino, H., Murakami, S., Harashima, K., 1969. Diglyceride-carrying lipoproteins in insect hemolymph isolation, purification and properties. *Biochim. Biophys. Acta* 176, 1-26.
- Chino, H., Takahashi, K., 1985. Action of Adipokinetic Hormone on Lipophorin in Locusts. *Zoolog. Sci.* 2, 906-906.
- Ciudad, L., Bellés, X., Piulachs, M.D., 2007. Structural and RNAi characterization of the German cockroach lipophorin receptor, and the evolutionary relationships of lipoprotein receptors. *BMC Mol. Biol.* 8, 53.

- Clark, A.J., Block, K., 1959. The absence of sterol synthesis in insects. *J. Biol. Chem.* 234, 2578-2582.
- Coelho, H.S.L., Atella, G.C., Moreira, M.F., Gondim, K.C., Masuda, H., 1997. Lipophorin density variation during oogenesis in *Rhodnius prolixus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35, 301-313.
- Dantuma, N.P., Pijnenburg, M.A.P., Diederens, J.H.B., Van der Horst, D.J., 1997. Developmental down-regulation of receptor-mediated endocytosis of an insect lipoprotein. *J. Lipid Res.* 38, 254-265.
- Downer, R.G.H., Chino, H., 1985. Turnover of protein and diacylglycerol components of lipophorin in insect hemolymph. *Insect Biochem.* 15, 627-630.
- Dyer, D.H., Vyazunova, I., Lorch, J.M., Forest, K.T., Lan, Q., 2009. Characterization of the yellow fever mosquito sterol carrier protein-2 like 3 gene and ligand-bound protein structure. *Mol. Cell. Biochem.* 326, 67-77.
- Faergeman, N.J., Wadum, M., Feddersen, S., Burton, M., Kragelund, B.B., Knudsen, J., 2007. Acyl-CoA binding proteins; structural and functional conservation over 2000 MYA. *Mol. Cell. Biochem.* 299, 55-65.
- Falabella, P., Perugino, G., Caccialupi, P., Riviello, L., Varricchio, P., Tranfaglia, A., Rossi, M., Malva, C., Graziani, F., Moracci, M., Pennacchio, F., 2005. A novel fatty acid binding protein produced by teratocytes of the aphid parasitoid *Aphidius ervi*. *Insect Mol. Biol.* 14, 195-205.
- Fan, Y., Schal, C., Vargo, E.L., Bagnères, A.G., 2004. Characterization of termite lipophorin and its involvement in hydrocarbon transport. *J. Insect Physiol.* 50, 609-620.
- Fauny, J.D., Silber, J., Zider, A., 2005. *Drosophila* Lipid Storage Droplet 2 gene (Lsd-2) is expressed and controls lipid storage in wing imaginal discs. *Dev. Dyn.* 232, 725-732.
- Fernando-Warnakulasuriya, G.J.P., Tsuchida, K., Wells, M.A., 1988. Effect of dietary lipid content on lipid transport and storage during larval development of *Manduca sexta*. *Insect Biochem.* 18, 211-214.
- Fruttero, L.L., Frede, S., Rubiolo, E.R., Canavoso, L.E., 2011. The storage of nutritional resources during vitellogenesis of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae): The pathways of lipophorin in lipid delivery to developing oocytes. *J. Insect Physiol.* 57, 475-486.
- Gäde, G., Auerswald, L., Marco, H.G., 2006. Flight fuel and neuropeptidergic control of fuel mobilisation in the twig wilter, *Holopterna alata* (Hemiptera, Coreidae). *J. Insect Physiol.* 52, 1171-1181.
- Goldring, J.P., Read, J.S., 1994. Insect acetyl-CoA carboxylase: enzyme activity during adult development and after feeding in the tsetse fly, *Glossina morsitans*. *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.* 108, 27-33.
- Golodne, D.M., Van Heusden, M.C., Gondim, K.C., Masuda, H., Atella, G.C., 2001. Purification and characterization of a lipid transfer particle in *Rhodnius prolixus*: Phospholipid transfer. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31, 563-571.
- Gondim, K.C., Oliveira, P.L., Coelho, H.S.L., Masuda, H., 1989a. Lipophorin from *Rhodnius prolixus*: purification and partial characterization. *Insect Biochem.* 19, 153-161.

- Gondim, K.C., Oliveira, P.L., Masuda, H., 1989b. Lipophorin and oogenesis in *Rhodnius prolixus*: transfer of phospholipids. *J. Insect Physiol.* 35, 19-27.
- Gong, J., Hou, Y., Zha, X.F., Lu, C., Zhu, Y., Xia, Q.Y., 2006. Molecular cloning and characterization of *Bombyx mori* sterol carrier protein x/sterol carrier protein 2 (SCPx/SCP2) gene. *DNA Seq.* 17, 326-333.
- Grillo, L.A.M., Majerowicz, D., Gondim, K.C., 2007. Lipid metabolism in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera : Reduviidae): Role of a midgut triacylglycerol-lipase. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 37, 579-588.
- Grönke, S., Beller, M., Fellert, S., Ramakrishnan, H., Jäckle, H., Kühnlein, R.P., 2003. Control of fat storage by a *Drosophila* PAT domain protein. *Curr. Biol.* 13, 603-606.
- Grönke, S., Mildner, A., Fellert, S., Tennagels, N., Petry, S., Müller, G., Jäckle, H., Kühnlein, R.P., 2005. Brummer lipase is an evolutionary conserved fat storage regulator in *Drosophila*. *Cell Metab.* 1, 323-330.
- Guo, X.R., Zheng, S.C., Liu, L., Feng, Q.L., 2009. The sterol carrier protein 2/3-oxoacyl-CoA thiolase (SCPx) is involved in cholesterol uptake in the midgut of *Spodoptera litura*: gene cloning, expression, localization and functional analyses. *BMC Mol. Biol.* 10, 102.
- Haunerland, N.H., Chisholm, J.M., 1990. Fatty acid binding protein in flight muscle of the locust, *Schistocerca gregaria*. *Biochim. Biophys. Acta* 1047, 233-238.
- Hirayama, Y., Chino, H., 1990. Lipid transfer particle in locust hemolymph: purification and characterization. *J. Lipid Res.* 31, 793-799.
- Johnson, C.G., 1963. Physiological factors in insect migration by flight *Nature* 198, 423-427.
- Jouni, Z.E., Takada, N., Gazard, J., Maekawa, H., Wells, M.A., Tsuchida, K., 2003. Transfer of cholesterol and diacylglycerol from lipophorin to *Bombyx mori* ovarioles in vitro: role of the lipid transfer particle. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 33, 145-153.
- Jouni, Z.E., Yun, H.K., Wells, M.A., 2002a. Cholesterol efflux from larval *Manduca sexta* fat body in vitro: high-density lipophorin as the acceptor. *J. Insect Physiol.* 48, 609-618.
- Jouni, Z.E., Zamora, J., Wells, M.A., 2002b. Absorption and tissue distribution of cholesterol in *Manduca sexta*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 49, 167-175.
- Kawooya, J.K., Law, J.H., 1988. Role of lipophorin in lipid transport to the insect egg. *J. Biol. Chem.* 263, 8748-8753.
- Kawooya, J.K., Osir, E.O., Law, J.H., 1988. Uptake of the major hemolymph lipoprotein and its transformation in the insect egg. *J. Biol. Chem.* 263, 8740-8747.
- Kim, M.S., Lan, Q., 2010. Sterol carrier protein-x gene and effects of sterol carrier protein-2 inhibitors on lipid uptake in *Manduca sexta*. *BMC Physiol.* 10, 9.
- Kirfel, G., Komnick, H., 1999. Differential absorption and esterification of dietary long-chain fatty acids by larvae of the dragonfly, *Aeshna cyanea*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 40, 183-193.
- Kolmer, M., Roos, C., Tirronen, M., Myohanen, S., Alho, H., 1994. Tissue specific expression of the diazepam binding inhibitor in *Drosophila melanogaster*: cloning, structure, and localization of the gene. *Mol. Cell. Biol.* 14, 6983-6995.

- Komnick, H., Giesa, U., 1994. Intestinal absorption of cholesterol, transport in the hemolymph, and incorporation into the fat body and Malpighian tubules of the larval dragonfly *Aeshna cyanea*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 107, 553-557.
- Krebs, K.C., Lan, Q., 2003. Isolation and expression of a sterol carrier protein-2 gene from the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Mol. Biol.* 12, 51-60.
- Lan, Q., Wessely, V., 2004. Expression of a sterol carrier protein-x gene in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Mol. Biol.* 13, 519-529.
- Lipovšek, S., Novak, T., Janžekovič, F., Pabst, M.A., 2011. Role of the fat body in the cave crickets *Troglophilus cavicola* and *Troglophilus neglectus* (Rhaphidophoridae, Saltatoria) during overwintering. *Arthropod Struct. Dev.* 40, 54-63.
- Liu, H., Ryan, R.O., 1991. Role of lipid transfer particle in transformation of lipophorin in insect oocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 1085, 112-118.
- Liu, M., Zhang, T.Y., Xu, W.H., 2005. A cDNA encoding diazepam-binding inhibitor/acyl-CoA-binding protein in *Helicoverpa armigera*: molecular characterization and expression analysis associated with pupal diapause. *Comp. Biochem. Physiol. C* 141, 168-176.
- Lorenz, M.W., 2001. Synthesis of lipids in the fat body of *Gryllus bimaculatus*: age-dependency and regulation by adipokinetic hormone. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 47, 198-214.
- Lorenz, M.W., 2007. Oogenesis-flight syndrome in crickets: age-dependent egg production, flight performance, and biochemical composition of the flight muscles in adult female *Gryllus bimaculatus*. *J. Insect Physiol.* 53, 819-832.
- Lorenz, M.W., Anand, A.N., 2004. Changes in the biochemical composition of fat body stores during adult development of female crickets, *Gryllus bimaculatus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 56, 110-119.
- Maatman, R.G., Degano, M., Van Moerkerk, H.T., Van Marrewijk, W.J., Van der Horst, D.J., Sacchettini, J.C., Veerkamp, J.H., 1994. Primary structure and binding characteristics of locust and human muscle fatty-acid-binding proteins. *Eur. J. Biochem.* 221, 801-810.
- Machado, E.A., Atella, G.C., Gondim, K.C., de Souza, W., Masuda, H., 1996. Characterization and immunocytochemical localization of lipophorin binding sites in the oocytes of *Rhodnius prolixus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 31, 185-196.
- Matsumoto, S., Yoshiga, T., Yokoyama, N., Iwanaga, M., Koshiba, S., Kigawa, T., Hirota, H., Yokoyama, S., Okano, K., Mita, K., Shimada, T., Tatsuki, S., 2001. Characterization of acyl-CoA-binding protein (ACBP) in the pheromone gland of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31, 603-609.
- Matsuoka, K., Tabunoki, H., Kawai, T., Ishikawa, S., Yamamoto, M., Sato, R., Ando, T., 2006. Transport of a hydrophobic biosynthetic precursor by lipophorin in the hemolymph of a geometrid female moth which secretes an epoxyalkenyl sex pheromone. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 36, 576-583.
- Miura, S., Gan, J.W., Brzostowski, J., Parisi, M.J., Schultz, C.J., Londos, C., Oliver, B., Kimmel, A.R., 2002. Functional conservation for lipid storage droplet association among Perilipin, ADRP, and TIP47 (PAT)-related proteins in mammals, *Drosophila*, and *Dictyostelium*. *J. Biol. Chem.* 277, 32253-32257.

- Mrdaković, M., Lazarević, J., Perić-Mataruga, V., Ilijin, L., Vlahović, M., 2008. Partial characterization of a lipase from gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) larval midgut. *Folia Biol. (Praha)* 56, 103-110.
- Oliveira, G.A., Baptista, D.L., Guimarães-Motta, H., Almeida, I.C., Masuda, H., Atella, G.C., 2006. Flight-oogenesis syndrome in a blood-sucking bug: biochemical aspects of lipid metabolism. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 62, 164-175.
- Oliveira, P.L., Gondim, K.C., Guedes, D.M., Masuda, H., 1986. Uptake of yolk proteins in *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.* 32, 859-866.
- Parra-Peralbo, E., Culi, J., 2011. Drosophila lipophorin receptors mediate the uptake of neutral lipids in oocytes and imaginal disc cells by an endocytosis-independent mechanism. *PLoS Genet.* 7, e1001297.
- Patel, R., Soulages, J.L., Wells, M.A., Arrese, E.L., 2004. cAMP-dependent protein kinase of *Manduca sexta* phosphorylates but does not activate the fat body triglyceride lipase. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 34, 1269-1279.
- Patel, R.T., Soulages, J.L., Arrese, E.L., 2006. Adipokinetic hormone-induced mobilization of fat body triglyceride stores in *Manduca sexta*: Role of TG-lipase and lipid droplets. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 63, 73-81.
- Patel, R.T., Soulages, J.L., Hariharasundaram, B., Arrese, E.L., 2005. Activation of the lipid droplet controls the rate of lipolysis of triglycerides in the insect fat body. *J. Biol. Chem.* 280, 22624-22631.
- Pontes, E.G., Leite, P., Majerowicz, D., Atella, G.C., Gondim, K.C., 2008. Dynamics of lipid accumulation by the fat body of *Rhodnius prolixus*: the involvement of lipophorin binding sites. *J. Insect Physiol.* 54, 790-797.
- Ryan, R.O., Van der Horst, D.J., 2000. Lipid transport biochemistry and its role in energy production. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 233-260.
- Ryan, R.O., Wells, M.A., Law, J.H., 1986. Lipid transfer protein from *Manduca sexta* hemolymph. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 136, 260-265.
- Sanders, H.R., Evans, A.M., Ross, L.S., Gill, S.S., 2003. Blood meal induces global changes in midgut gene expression in the disease vector, *Aedes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 33, 1105-1122.
- Santos, R., Rosas-Oliveira, R., Saraiva, F.B., Majerowicz, D., Gondim, K.C., 2011. Lipid accumulation and utilization by oocytes and eggs of *Rhodnius prolixus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 77, 1-16.
- Sawabe, K., Moribayashi, A., 2000. Lipid utilization for ovarian development in an autogenous mosquito, *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 37, 726-731.
- Schal, C., Sevala, V., Capurro, M.L., Snyder, T.E., Blomquist, G.J., Bagnères, A.G., 2001. Tissue distribution and lipophorin transport of hydrocarbons and sex pheromones in the house fly, *Musca domestica*. *J. Insect Sci.* 1, 12.
- Sieber, M.H., Thummel, C.S., 2009. The DHR96 nuclear receptor controls triacylglycerol homeostasis in *Drosophila*. *Cell Metab.* 10, 481-490.
- Sieglaff, D.H., Duncan, K.A., Brown, M.R., 2005. Expression of genes encoding proteins involved in ecdysteroidogenesis in the female mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35, 471-490.

- Smith, A.F., Tsuchida, K., Hanneman, E., Suzuki, T.C., Wells, M.A., 1992. Isolation, characterization, and cDNA sequence of two fatty acid-binding proteins from the midgut of *Manduca sexta* larvae. *J. Biol. Chem.* 267, 380-384.
- Snyder, M.J., Feyereisen, R., 1993. A diazepam binding inhibitor (DBI) homolog from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Mol. Cell. Endocrinol.* 94, R1-R4.
- Snyder, M.J., Van Antwerpen, R., 1997. Cellular distribution, levels, and function of the diazepam-binding inhibitor/acyl-CoA-binding protein in last instar *Manduca sexta* midgut. *Cell Tissue Res.* 288, 177-184.
- Soulages, J.L., Wells, M.A., 1994a. Effect of diacylglycerol content on some physicochemical properties of the insect lipoprotein, lipophorin: Correlation with the binding of apolipoprotein-III. *Biochemistry* 33, 2356-2362.
- Soulages, J.L., Wells, M.A., 1994b. Lipophorin: the structure of an insect lipoprotein and its role in lipid transport in insects. *Adv. Protein Chem.* 45, 371-415.
- Soulages, J.L., Wells, M.A., 1994c. Metabolic fate and turnover rate of hemolymph free fatty acids in adult *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24, 79-86.
- Spates, G.E., Bull, D.L., Chen, A.C., 1990. Hydrolysis of sphingomyelin and phosphatidylcholine by midgut homogenates of the stable fly. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 14, 1-12.
- Sridhara, S., Bhat, J.V., 1965. Further investigations of the incorporation of (1-¹⁴C)acetate into the lipids of the silkworm *Bombyx mori* L. *Biochem. J.* 94, 700-704.
- Stanley, D.W., Sarath, G., Rana, R.L., 1998. A digestive phospholipase A₂ in midguts of tobacco hornworms, *Manduca sexta* L. *J. Insect Physiol.* 44, 297-303.
- Su, C.L., Sztalryd, C., Contreras, J.A., Holm, C., Kimmel, A.R., Londos, C., 2003. Mutational analysis of the hormone-sensitive lipase translocation reaction in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 278, 43615-43619.
- Sun, J.X., Hiraoka, T., Dittmer, N.T., Cho, K.H., Raikhel, A.S., 2000. Lipophorin as a yolk protein precursor in the mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 30, 1161-1171.
- Surholt, B., Goldberg, J., Schulz, T.K.F., Beenackers, A.M.T., Van der Horst, D.J., 1991. Lipoproteins act as a reusable shuttle for lipid transport in the flying death's-head hawkmoth, *Acherontia atropos*. *Biochim. Biophys. Acta* 1086, 15-21.
- Surholt, B., Van Doorn, J.M., Goldberg, J., Van der Horst, D.J., 1992. Insect lipophorin conversions. Compositional analysis of high- and low-density lipophorin of *Acherontia atropos* and *Locusta migratoria*. *Biol. Chem. Hoppe. Seyler* 373, 13-10.
- Takeuchi, H., Chen, J.H., Jenkins, J.R., Bun-Ya, M., Turner, P.C., Rees, H.H., 2004. Characterization of a sterol carrier protein 2/3-oxoacyl-CoA thiolase from the cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*): a lepidopteran mechanism closer to that in mammals than that in dipterans. *Biochem. J.* 382, 93-100.
- Takeuchi, N., Chino, H., 1993. Lipid transfer particle in the hemolymph of the american cockroach: evidence for its capacity to transfer hydrocarbons between lipophorin particles. *J. Lipid Res.* 34, 543-551.

- Telfer, W.H., Pan, M.L., 1988. Adsorptive endocytosis of vitellogenin, lipophorin, and microvitellogenin during yolk formation in *Hyalophora*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 9, 339-355.
- Thomas, K.K., Gilbert, L.I., 1967. In vitro studies on the release and transport of phospholipids. *J. Insect Physiol.* 13, 963-980.
- Turunen, S., Crailsheim, K., 1996. Lipid and sugar absorption, in: Lehane, M.J., Billingsley, P.F. (Eds.), *Biology of insect midgut*. Chapman and Hall, London.
- Van Antwerpen, R., Linnemans, W.A.M., Van der Horst, D.J., Beenackers, A.M.T., 1988. Immunocytochemical localization of lipophorins in the flight muscles of the migratory locust (*Locusta migratoria*) at rest and during flight. *Cell Tissue Res.* 252, 661-668.
- Van Antwerpen, R., Salvador, K., Tolman, K., Gentry, C., 1998. Uptake of lipids by developing oocytes of the hawkmoth *Manduca sexta*: The possible role of lipoprotein lipase. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 28, 399-408.
- Van der Horst, D.J., Rodenburg, K.W., 2010. Locust flight activity as a model for hormonal regulation of lipid mobilization and transport. *J. Insect Physiol.* 56, 844-853.
- Van der Horst, D.J., Van Doorn, J.M., Dekeijzer, A.N., Beenackers, A.M.T., 1981. Interconversions of diacylglycerol-transporting lipoproteins in the hemolymph of *Locusta migratoria*. *Insect Biochem.* 11, 717-723.
- Van der Horst, D.J., Van Doorn, J.M., Passier, P.C., Vork, M.M., Glatz, J.F., 1993. Role of fatty acid-binding protein in lipid metabolism of insect flight muscle. *Mol. Cell. Biochem.* 123, 145-152.
- Van Heusden, M.C., Law, J.H., 1989. An insect lipid transfer particle promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biol. Chem.* 264, 17287-17292.
- Van Heusden, M.C., Van der Horst, D.J., Voshol, J., Beenackers, A.M.T., 1987. The recycling of protein components of the flight-specific lipophorin in *Locusta migratoria*. *Insect Biochem.* 17, 771-776.
- Van Hoof, D., Rodenburg, K.W., Van der Horst, D.J., 2002. Insect lipoprotein follows a transferrin-like recycling pathway that is mediated by the insect LDL receptor homologue. *J. Cell Sci.* 115, 4001-4012.
- Van Hoof, D., Rodenburg, K.W., Van der Horst, D.J., 2005. Receptor-mediated endocytosis and intracellular trafficking of lipoproteins and transferrin in insect cells. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35, 117-128.
- Vyazunova, I., Wessley, V., Kim, M., Lan, Q., 2007. Identification of two sterol carrier protein-2 like genes in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Mol. Biol.* 16, 305-314.
- Wang, J.L., Wang, J.X., Zhao, X.F., 2008a. Molecular cloning and expression profiles of the acyl-CoA-binding protein gene from the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 68, 79-88.
- Wang, S., Soni, K.G., Semache, M., Casavant, S., Fortier, M., Pan, L., Mitchell, G.A., 2008b. Lipolysis and the integrated physiology of lipid energy metabolism. *Mol. Genet. Metab.* 95, 117-126.

- Weiber, B., Komnick, H., 1997. Digestion of phosphatidylcholines, absorption, and esterification of lipolytic products by *Aeshna cyanea* larvae as studied in vivo and in vitro. Arch. Insect Biochem. Physiol. 36, 273-293.
- Wheeler, C.H., Goldsworthy, G.J., 1985. Specificity and localization of lipoproteins lipase in the flight muscle of *Locusta migratoria*. Biol. Chem. Hoppe. Seyler 366, 1071-1077.
- Young, H.P., Bachmann, J.A., Sevala, V., Schal, C., 1999. Site of synthesis, tissue distribution, and lipophorin transport of hydrocarbons in *Blattella germanica* (L.) nymphs. J. Insect Physiol. 45, 305-315.
- Yun, H.K., Jouni, Z.E., Wells, M.A., 2002. Characterization of cholesterol transport from midgut to fat body in *Manduca sexta* larvae. Insect Biochem. Mol. Biol. 32, 1151-1158.
- Ziegler, R., 1991. Changes in lipid and carbohydrate metabolism during starvation in adult *Manduca sexta*. J. Comp. Physiol. [B] 161, 125-131.
- Ziegler, R., 1997. Lipid synthesis by ovaries and fat body of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Eur. J. Entomol. 94, 385-391.
- Ziegler, R., Van Antwerpen, R., 2006. Lipid uptake by insect oocytes. Insect Biochem. Mol. Biol. 36, 264-272.