

# PPAR- $\gamma$ E ADIPOGÊNESE DE TECIDO ADIPOSEO BRANCO DE RATOS INOCULADOS COM TUMOR DE WALKER 256

Camila Katlen Luvisa<sup>1</sup>; Cláudio Saburo Shida<sup>2</sup>; Miguel Luiz Batista Júnior<sup>3</sup>

Estudante do Curso de Fisioterapia; e-mail: kami\_luvisa@yahoo.com.br<sup>1</sup>

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: shida@umc.br<sup>2</sup>

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: migueljr@usp.br<sup>3</sup>

**Área do Conhecimento: Fisiologia de Órgãos e Sistemas**

**Palavras-chaves: Caquexia; adipogênese; PPAR $\gamma$ -2**

## INTRODUÇÃO

A caquexia é uma síndrome cujo sintoma mais notável é a acentuada e rápida perda de peso corporal acompanhado de uma depleção da massa muscular esquelética e do tecido adiposo branco (TAB). As alterações no metabolismo lipídico na caquexia associada ao câncer abrangem marcada redução da massa gorda total, aumento na lipólise, na oxidação total de ácidos graxos, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, aumento no ciclo de lipólise-reesterificação, diminuição das taxas de lipogênese e da atividade e conteúdo de mRNA da lipase de lipoproteínas (LPL) (Argilés *et al.*, 1997). A perda dos estoques de gordura não está relacionada apenas ao quadro de anorexia (restrição alimentar), mas sim a uma sobreposição das respostas catabólicas em relação às anabólicas no tecido adiposo. O modelo experimental de caquexia mais estudado é o induzido pelo carcinossarcoma de Walker 256 em ratos. Juntamente com as modificações já descritas, ocorre a diminuição de genes da célula adiposa, que são específicos na modulação da diferenciação do pré-adipócito para o adipócito. Os eventos iniciais da diferenciação envolvem aumentos nas proteínas ligadoras ao amplificador/CCAAT  $\beta$  e  $\delta$  (C/EBP- $\beta$  e  $\delta$ , do inglês, *CCAAT/enhancer binding protein*) de uma maneira transitória, permitindo desta forma, a distinção entre um pré-adipócito e uma célula precursora não-adipogênica e, após isto, ativam a expressão gênica do receptor ativado por Proliferadores de Peroxissomos  $\gamma$ -2 (PPAR $\gamma$ -2), o qual, por sua vez, estimula a expressão gênica de C/EBP $\alpha$ , que em conjunto ao PPAR $\gamma$ -2, exerce efeito sinérgico no controle da diferenciação terminal (Rosen, 2005). A importância de maior aprofundamento no estudo das características morfológicas e moleculares da caquexia é indiscutível. As correntes visões da síndrome, quer como um processo inflamatório, quer como um desequilíbrio fisiológico tão profundo a ponto de ser proposta como agente causador e não consequência do aparecimento de tumores, demonstram a insuficiência da informação obtida até o momento atual. Além disso, estas alterações incidem, em sua maioria, sobre parâmetros que são regulados no organismo normal pela expressão e ativação de PPAR $\gamma$ -2.

## OBJETIVOS

Investigar a variação de massa corpórea e de ingestão alimentar de ratos com tumor de Walker 256 e compará-la com a de ratos sem tumor. Avaliar a expressão gênica de PPAR $\gamma$ -2 no tecido adiposo branco durante a evolução do tumor de Walker e consequente desenvolvimento do quadro caquético.

## **METODOLOGIA**

Os experimentos de controle de peso e ingestão alimentar foram avaliados em treze animais, divididos em grupo tumor (com nove animais) e grupo controle (com quatro animais). O controle da massa corpórea total e da ingestão de ração foi realizado ao longo dos quatorze dias de vigência do tumor, sendo que parte dos ratos foi sacrificada no sétimo dia de vigência. A escolha dos animais para o sacrifício foi determinada de acordo com os sinais desenvolvidos pelo rato com tumor, ou seja, aqueles que apresentavam sinais mais críticos de desenvolvimento foram sacrificados primeiramente. O sacrifício dos animais foi realizado por decapitação sem anestesia. Após isso, foi feita uma secção na região do abdome para coleta dos tecidos adiposos mesentérico (TAME), retroperitoneal (TARP) e epididimal (TAE) para realização de análise de expressão gênica. Coletamos, também, o sangue com EDTA e centrifugamos a 400g, por 15 minutos, a 4°C. O soro foi armazenado a -80°C para posterior análise bioquímica. As amostras utilizadas para avaliação da expressão gênica de PPAR $\gamma$  foram coletadas na Universidade de São Paulo (USP), Departamento de Ciências Biomédicas II (ICB II), no laboratório de lípidos da Prof<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup> Marília Cerqueira Seelaender. A expressão gênica foi realizada através da técnica RT-PCR (reação em cadeia da polimerase em tempo real). Inicialmente, a extração de RNA é feita utilizando-se o reagente Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA), seguindo as recomendações do fabricante. O RNA total extraído do tecido adiposo foi colocado em presença de Deoxiribonuclease I, DNase altamente purificada, para a remoção do DNA genômico. Após isso, foi realizada a reação de transcrição reversa onde foi utilizado 1 $\mu$ g de RNA total contendo Oligo dt (500  $\mu$ g/mL), 10 mM de cada dNTP, 5x First-Strand Buffer, DTT e 200 U de transcriptase reversa (SuperScript II-Invitrogen). A transcrição reversa foi efetuada a 70°C por 10 minutos, adicionando a transcriptase reversa, continuou o ciclo à 42°C por 60 minutos e 95°C por 10 minutos. A reação ocorreu em condições de ciclagem pré-determinadas, sendo duas etapas de 50°C por 2 minutos e 95°C por 10 minutos, a amplificação ocorreu em 40 ciclos: a desnaturação a 95°C por 15 segundos e anelamento a 63° por 60 segundos, com extensão a 72°C por 2 minutos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O grupo com tumor subcutâneo apresentou uma pequena perda de massa corpórea quando comparado ao grupo controle. Isso pode ter ocorrido em função da agressividade do tumor, que no caso deste grupo, não foi suficientemente capaz de gerar uma perda de peso acentuada. A caquexia associada ao câncer é uma doença metabólica complexa que possui como característica principal a perda de peso progressiva, com redução tanto da massa muscular esquelética, como do tecido adiposo, que ocorre com o desenvolvimento do tumor. Evidências indicam que a perda de peso surge em decorrência de várias alterações metabólicas que ocorrem durante o desenvolvimento tumoral, sendo que sua malignidade também influencia nas alterações. Aliado a isso, a ingestão alimentar reduzida e o aumento do gasto energético, também se enquadram no quadro de desbalanço metabólico (Skipworth *et. al.*, 2007). A Figura I mostra a expressão gênica do PPAR $\gamma$  no tecido adiposo TAE e TARP, na evolução do tumor.

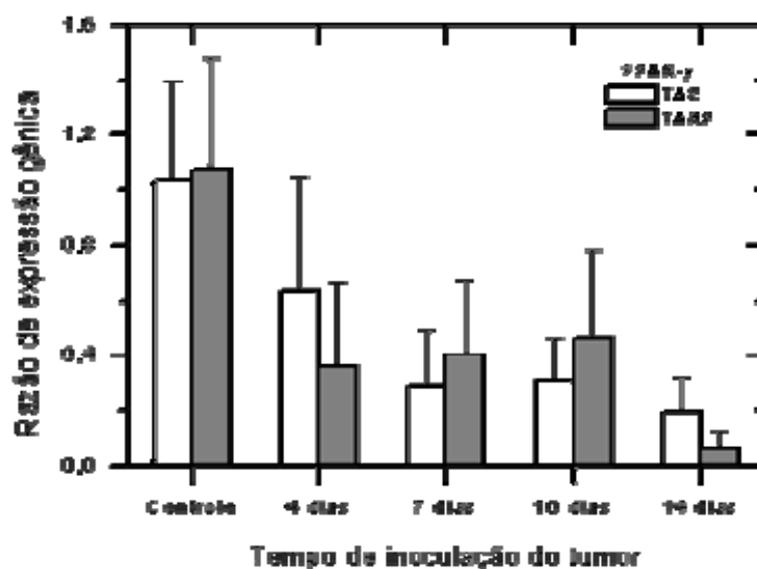


FIGURA I. Razão da expressão gênica do PPAR $\gamma$  no TAE e TARP, na evolução do tumor e no grupo controle (sem tumor).

O PPAR $\gamma$  desempenha um papel importante no tecido adiposo branco, tratando-se do armazenamento de lipídios e na diferenciação dos adipócitos, atuando como um potente estimulante da cascata de diferenciação celular do adipócito (Tachibana *et. al.*, 2008). Além disso, ele também possui grande importância no processo de inflamação e no metabolismo da glicose (Lehrke & Lazar, 2005). A expressão no TARP e no TAE do PPAR $\gamma$  sofre uma diminuição, quando comparados ao grupo controle, com algumas oscilações durante o período que compreende o quarto e o décimo dia após a inoculação do tumor. Nossos resultados sugerem que a diminuição da expressão de PPAR $\gamma$  pode causar alterações diretas na adipogênese, processo no qual o gene atua intensamente.

## CONCLUSÕES

Observamos que a expressão do PPAR $\gamma$  diminuiu com a evolução do tumor, a partir do quarto dia no TARP e do sétimo dia no TAE, passando por algumas oscilações durante o período avaliado. Essa diminuição sugere que o PPAR $\gamma$  pode estar relacionado à perda de estoques de tecido adiposo característica da caquexia interferindo na massa gorda total. Os resultados da expressão gênica sugerem a necessidade de mais estudos, enfocando os diversos fatores que ocorrem na adipogênese.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argiles J.M., B. Alvarez, F.J. Lopez-Soriano. The metabolic basis of cancer cachexia. *Medicinal Research Reviews*. 17: 477-498 1997.
- Lehrke, M; Lazar, M. The many faces of PPAR $\gamma$ . *Cell*, vol. 123, no. 6, pp. 993–999, 2005.
- Rosen E.D. The Transcriptional Basis of Adipocyte Development. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 73: 31-34, 2005.

Skipworth R.J.C., Stewart G.D., Dejong C.H.C., et al. Pathophysiology of cancer cachexia: much more than host-tumour interaction? Clin Nutr 2007; 83:667-676.

Tachibana, K; Yamasaki, D; Ishimoto, K; Doi, T. The Role of PPARs in Cancer. PPAR Research. Volume 2008, 15 pages.