

MODULAÇÃO DO MECANISMO LIPOLÍTICO NO TECIDO ADIPOSEO BRANCO AO DECORRER DA SÍNDROME CAQUÉTICA.

Pâmela Viegas Knöbl¹; Miguel Luiz Batista Junior²

Estudante do curso de Biomedicina; e-mail: pamelaknobl@hotmail.com¹
Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; migueljr@umc.br²

Área de Conhecimento: Fisiologia de Órgãos e Sistemas.

Palavras-chave: Caquexia; lipólise; tecido adiposo branco;

INTRODUÇÃO

A caquexia é uma síndrome multifacetada de etiologia desconhecida, associada a doenças subjacentes, caracterizada pela acentuada redução da massa corporal total, descrita como o principal marcador clínico da síndrome, podendo apresentar quadros secundários como anorexia, anemia, astenia, além de alterações em parâmetros bioquímicos plasmáticos (hipertriglicéremia e hipercolesterolemia).

A redução na massa corporal se dá principalmente pela atrofiado do tecido muscular estriado esquelético e do tecido adiposo branco (TAB), resultado de uma série de alterações morfofuncionais nestes tecidos. Por outro lado, o hipermetabolismo é inferido como a principal característica da síndrome caquética sendo a causa direta da perda de peso observada na caquexia. No caso do TAB, além das profundas alterações morfológicas descritas anteriormente, a presença de alterações metabólicas que ocorrem antes das alterações morfológicas, tais como a diminuição na lipogênese (síntese de triacilglicerol) e aumento na lipólise (hidrólise de triacilglicerol) foram descritas recentemente.

Estudos conduzidos em nosso laboratório têm evidenciado que a caquexia cancerosa induz a perda de TAB de maneira heterogênea em seus diversos estoques de tecido. Além disso, em estudos é o primeiro órgão afetado na caquexia, em comparação ao músculo estriado esquelético e desta forma, o mesmo tem sido proposto como importante órgão afetado pelo “caos” metabólico, induzido pela caquexia. Tal alteração metabólica no TAB tem sido descrita pelo aumento na mobilização de lipídios devido à lipólise aumentada, fator chave por trás da atrofia dos adipócitos.

Sugere-se que a presença do tumor surta efeitos adversos em resposta combativa a sua presença, como a produção e ou alteração funcional de mediadores nessa síndrome. Além disso, sabe-se que o mecanismo lipolítico pode ser modulado por algumas citocinas que auxiliam no agravamento da síndrome. Estudos *in vitro*, realizados em roedores, têm demonstrado que o TNF- α (fator de necrose tumoral) estimula a lipólise em adipócitos isolados. Em animais caquéticos, a expressão gênica desta proteína apresenta-se aumentado no TAB mesentérico, a partir do 7º dia após a inoculação do tumor de Walker. Por outro lado, a adiponectina, proteína moduladora do perfil metabólico, que induz, dentre outras alterações, a supressão das vias lipolíticas pela inativação da HSL, e encontra-se aumentada nas fases iniciais da síndrome, e pode ter papel relevante na modulação da lipólise, pelo menos nesta fase. Entretanto, a lipólise basal, demonstrou diminuição de na capacidade lipolítica durante o início do desenvolvimento da síndrome. No entanto, é válido ressaltar que a determinação exata das substâncias envolvidas no desenvolvimento da caquexia e o seu papel no tecido adiposo perante a síndrome caquética ainda é desconhecida. Diante disso, pretendemos aprofundar mais os achados e assim propomo-

nos a verificar as possíveis alterações no processo lipolítico do TAB ocasionadas pela presença de citocinas relevantes na modulação do quadro caquético.

OBJETIVOS

Avaliar a evolução temporal da caquexia induzida por tumor de Walker 256. Caracterizando as alterações metabólicas no TAB perante o quadro da caquexia, por meio da mensuração temporal da massa corporal, ingestão alimentar, morfometria dos adipócitos e investigar as alterações na expressão das proteínas e nas taxas de lipólise em adipócitos isolados e citocinas relacionadas ao metabolismo lipolítico.

METODOLOGIA

Foram utilizados ratos machos da linhagem *Wistar* pesando entre 250-350g., com 6 a 10 semanas de vida obtidos pelo Biotério Central da Universidade de Mogi das Cruzes. Os experimentos cujos protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais e respeitados segundo suas normas.

Desenho Experimental: Para verificar possíveis alterações metabólicas ocasionadas no tecido retroperitoneal (RP) e mesentérico (ME), os animais foram divididos em dois grupos experimentais (n=5) sendo: câncer (CA), o qual receberam aplicação subcutânea contendo 2×10^7 células do tumor de *Walker* 256 em *qsp* 1 mL de solução salina (0,9%); e controle (CO), que receberam injeção subcutânea de veículo. Os animais foram avaliados no tempo, 4º dia, caracterizando o início do quadro caquético e 14º dia demonstrando o seu desfecho, após a inoculação do tumor e sacrificados por decapitação, sem anestesia.

Ingesta Alimentar e Coleta do Soro: Na vigência do experimento os ratos e a ração foram pesados diariamente. Os tecidos foram pesados logo após o sacrifício. O sangue coletado foi centrifugado à 2000 rpm à 4°C por 20 minutos, e as dosagens procedeu-se conforme instruções do fabricante.

Lipólise: O protocolo foi adaptado segundo Honnor; Dhillon; Londos (1985). 1g de tecido foi digerido utilizando colagenase tipo II para obtenção de adipócitos isolados. Os adipócitos isolados foram incubados em presença de 0.3µM de adenosina por 30 min. . Em seguida acrescentar-se-á 10 % de adenosina deaminase por mais 30 min a 37 °C para permitir a degradação da adenosina. Após este período, as células foram incubadas por 60 minutos a 37°C com ou sem 10 µL de isoproterenol (10^{-5} M). O glicerol liberada pelos adipócitos no meio de incubação fora determinada pelo método enzimático-colorimétrico (Sigma).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizado o controle de ração diária para termos dados necessários para realização de comparações entre os ratos com tumor e os controles para podermos ver se nosso modelo experimental (tumor de Walker 256) está agindo nos ratos e fazendo com que ele induza a anorexia – caquexia nos ratos com tumor presente. Na figura 1 mostramos a média diária do consumo de ração ao longo de duas semanas.

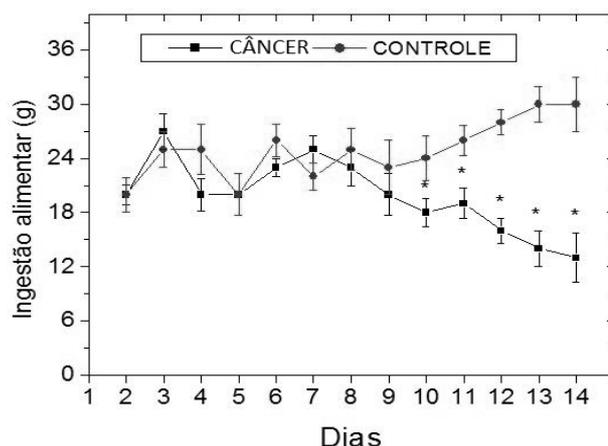


Figura 1. Comparação da ingestão de ração entre os ratos inoculados com tumor de Walker 256 e os ratos controle. Os resultados estão representados em média ($n=5$) \pm erro padrão da média, nos diferentes períodos experimentais (controle 4º e 14º dia; câncer, 4º e 14º dia após a inoculação das células tumorais). Para análise estatística foi utilizado *Desvio padrão* com significância estipulada em $*p < 0,05$.

Como podemos visualizar, o consumo de ração nos ratos controle (sem a presença do tumor) apresenta uma maior ingestão de ração comparado com os ratos com o tumor de Walker 256. Essa diferença ocorre pois estudos mostram que o tumor Walker 256 é um importante modelo de estudo da anorexia - caquexia, esse modelo pode induzir anorexia e caquexia em ratos com a presença desse tumor, fazendo assim ocorrer a diminuição da ingestão de alimento a partir do 10º dia da inoculação tumoral nos animais caquéticos. Erro utilizado: Desvio Padrão.

Sabendo que a redução da massa corpórea é apontada como marcador clínico da síndrome, e que essa depleção afeta principalmente o TAB, observou-se durante o desenvolvimento da caquexia o peso dos tecidos. Os resultados evidenciam a redução da massa de estoques de TAB, notadamente ME e RP, nos estágios finais da caquexia. Estes achados vão de encontro aos estudos conduzido por Seelaender (MACHADO *et al.*, 2004). Ao compararmos os pesos dos tecidos (figura 2) do grupo dos animais portadores do tumor (grupo câncer) com o grupo controle (dia 0), verificamos que ocorre uma diminuição dos estoques de TAB, tanto ME (figura 2A) quando RP (figura 2B), no 14º dia. Além disso, verifica-se que a alteração/depleção dos diferentes estoques viscerais ocorre apenas nos estágios finais da caquexia, e que essas não ocorrem da mesma forma entre os diferentes depósitos avaliados. Caracterizando assim o quadro de caquexia associada ao câncer e endossando o uso do modelo animal.

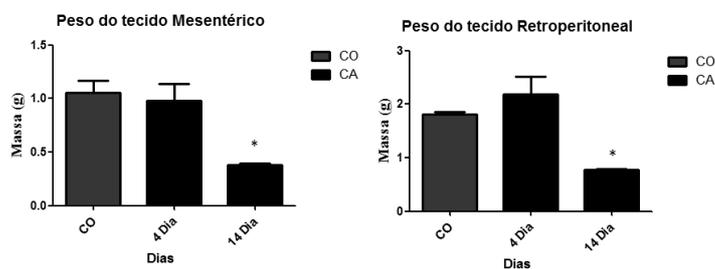


Figura 2 - Massa relativa dos estoques de tecido adiposo branco mesentérico (a) e retroperitoneal (b). Os resultados estão representados em média ($n=5$) \pm erro padrão da média, nos diferentes períodos experimentais (controle; câncer, 4º e 14º dia após a inoculação das células tumorais). Para análise estatística foi utilizado *Anova one way* seguido pelo pós teste *Tukey e teste t* com significância estipulada em $*p < 0,05$.

A figura 3 representa a lipólise basal e máxima realizada no tecido mesentérico. Observamos redução significativa na lipólise basal no grupo CA (figura 3A) após 4 dias da inoculação. No 14º dia foi constatado aumento bastante significativo da taxa lipolítica

basal do grupo CA (figura 3A). Quando estimuladas por isoproterenol notamos, no 4º dia, que as células do grupo CA ainda apresentam menor taxa lipolítica quando comparadas às células do grupo CO (figura 3B). Entretanto, no 14º dia, ao receberem estímulo com isoproterenol, as células do grupo CA não apresentam aumento na taxa lipolítica (figura 3B).

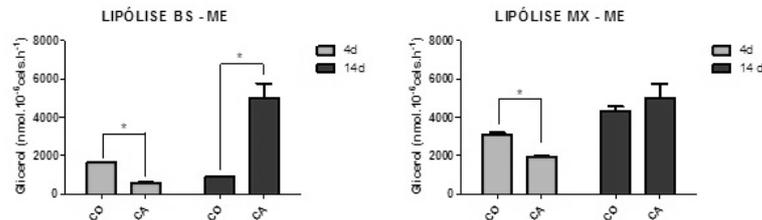


Figura 3 - Mensuração da lipólise basal (BS) e máxima (MX), demonstradas respectivamente no gráfico, no tecido mesentérico (ME) em ratos caquéticos com tumor de *Walker 256*. Os resultados estão representados em média (n=5) ± erro padrão da média, nos diferentes períodos experimentais (controle 4º e 14º dia; câncer, 4º e 14º dia após a inoculação das células tumorais). Para análise estatística foi utilizado *Anova one way* seguido pelo pós teste *Tukey* com significância estipulada em *p < 0,05.

CONCLUSÃO

Em suma, os resultados descritos até aqui demonstram que, na caquexia associada ao tumor Walker-256, há uma série de distúrbios metabólicos:

- Heterogeneidade dos diferentes estoques de TAB.
- Alterações nas taxas da lipólise no tecido mesentérico.

REFERÊNCIAS

BATISTA, M. L. Jr.; NEVES, R.X.; PERES, S.B.; YAMASHITA, A.S.; SHIDA, A.C.; FARMER, S.R.; SEELAENDER, M. Heterogeneous Time- Dependent Response of Adipose Tissue During the development of Cancer Cachexia. **J. Endocrinol.** 215(3):363-73., 2012.

HONNOR, C. R.; DHILLON, S. G.; LONDOS, C. CAMP-dependent Protein Kinase and Lipolysis in Rat Adipocytes. Cell preparation, manipulation, and predictability in behavior. **The journal of biological chemistry**, v260, No. 28, p. 15122-15129, 1985.

MACHADO, A. P.; ROSA, L. F. P. B.; SEELAENDER, M. C. L. Adipose tissue in Walker 256 tumor-induced cachexia: possible and mononuclear cell infiltration. **Cell Tissue Res.** (2004) 318 503-504.

AGRADECIMENTOS

FAPESP E CNPq.