

CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL TERMOGÊNICO NA CAQUEXIA ASSOCIADA AO CÂNCER EM ANIMAIS KNOCKOUTS PARA UCP-1

Jéssica Silva Santos¹; Magno Alves Lopes²; Miguel Luiz Batista Junior³

1. Estudante do curso de Biomedicina; e-mail: santos.jessica@outlook.com
2. Doutor do Instituto de fisiologia CAS; e-mail: magnolopes22@hotmail.com
3. Professor da Universidade Mogi das Cruzes; e-mail: migueljr4@me.com

Área de conhecimento: **Fisiologia de órgãos e tecidos**

Palavras-chave: Câncer; Caquexia; Tecido Adiposo; Termogênese; UCP1.

INTRODUÇÃO

A caquexia associada ao câncer é uma síndrome multifatorial com a etiologia ainda desconhecida, sua principal característica é a redução involuntária e progressiva de massa magra e gorda sem terapia conhecida que a reverta (FEARON *et al.*, 2011). Foi descrito na literatura que o tecido adiposo branco (TAB) é o primeiro tecido afetado durante a síndrome, isso se deve, entre outras razões pelo aumento da lipólise dos adipócitos, redução da lipogênese decorrente diminuição da atividade da lipase lipoproteica e por fim o comprometimento na formação e desenvolvimento do tecido adiposo (BATISTA *et al.*, 2012). Além disso, foi descrito recentemente o fenômeno de *browning* no TAB (remodelamento de adipócitos brancos com características de adipócitos marrons) que se encontra aumentado na síndrome, esses adipócitos denominados de beges possuem metabolismo acelerado, pois dissipam energia em forma de calor pela expressão de uma proteína mitocondrial denominada uncoupling *protein* 1 (UCP-1), na qual contribui para a redução da massa do tecido durante a caquexia (PETRUZZELLI *et al.*, 2014). A proteína UCP1 está presente na membrana mitocondrial dos adipócitos que constituem o tecido adiposo marrom, onde a mesma se apresenta em maior concentração (CANNON; NEDERGAARD, 2004). Já é de conhecimento que a UCP1 atua no processo de termogênese e dissipação de calor pelo organismo (CANNON; NEDERGAARD, 2004). Tal processo termogênico é de fundamental importância para a manutenção da homeostase do corpo, permitindo assim bom funcionamento enzimático, adaptação a exposição em diferentes temperaturas e otimização dos movimentos (BIANCO, 2000). Entretanto uma vez que a caquexia estimula o *Browning* e ele por sua vez aumenta a concentração de UCP1 no tecido adiposo, ocorrerá assim uma maior dissipação de calor pelo organismo e esta perda de energia poderá ser um agravante no processo de redução de massa no quadro caquético, acarretando no comprometimento funcional do organismo, influenciando assim na qualidade de vida e em quadros mais graves no tempo de vida dos indivíduos acometidos pela síndrome. Sendo assim nosso estudo se propõe a avaliar a ação termogênica na caquexia associada ao câncer em animais *knockouts* para UCP1, prioritariamente avaliando a via independente de UCP1.

OBJETIVO

Caracterizar a resposta termogênica em camundongos *knockouts* para UCP1 com caquexia induzida pelo câncer. Avaliar se os efeitos da caquexia associada ao câncer ocorrem normalmente em camundongos *knockouts* para UCP1 e se a via termogênica independente de UCP1 está presente na caquexia associada ao câncer.

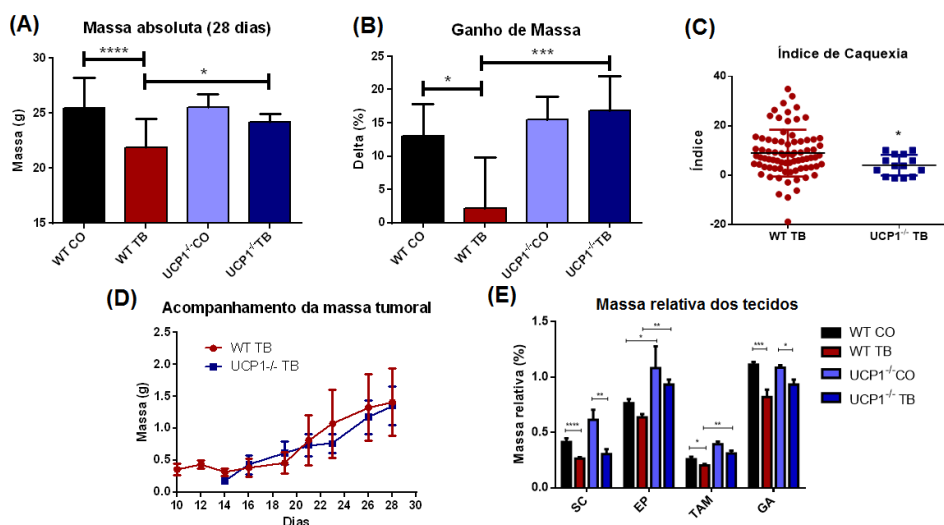
METODOLOGIA

Foram utilizados 11 camundongos machos, com idade aproximada de 56 dias, de linhagem C57BL/6 *knockouts* para UCP1 (CEUA 012/2018) pesando entre 20 a 25g. Os animais foram divididos em dois grupos, sendo grupo controle *knockouts* UCP1 (UCP1^{-/-} CO) (N=4) e grupo tumor *knockouts* (UCP1^{-/-} TB) (N=7). Para estabelecer o comparativo com os animais selvagens controle (WT CO) e tumor (WT TB) foram utilizados dados anteriormente obtidos pelo grupo de laboratório com característica experimental semelhante na idade, linhagem e acondicionamento dos animais. A indução tumoral foi realizada utilizando células tumorais da linhagem *lewis lung carcinoma* (LLC) injetadas subcutaneamente em concentração 3,5x10⁵. A massa corporal e temperatura retal dos camundongos foram acompanhadas durante os 28 dias do período experimental. Após a eutanásia, foram coletados o sangue e os tecidos adiposos e musculares foram dissecados e armazenados para análises posteriores. Foram realizadas análises histológicas, qPCR para avaliar a expressão gênica e termografia infravermelha para observação das fontes de calor ativas. A análise estatística foi realizada pelo *software GraphPad Prism* utilizando análise de variância (ANOVA) em uma via, seguida de pós-teste de Turkey e adotando valor para significância $p=0,05$ sendo os dados expressos como média ± desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 é expressa os dados referentes a massa absoluta, ganho de massa, índice de caquexia, acompanhamento da massa tumoral e massa relativa dos tecidos dos camundongos *knockouts* UCP1^{-/-} em relação aos dados obtidos previamente pelo nosso grupo em animais selvagens nas mesmas condições experimentais aplicadas para o grupo *knockout*. Os resultados apresentados na Figura 1A e 1B sugerem uma preservação na redução da massa corporal em camundongos do grupo *knockouts* tumor (UCP1^{-/-} TB) em relação ao grupo selvagem tumor (WT TB). A figura 1C demonstra que com a deleção da UCP1^{-/-} os animais portadores de tumor apresentaram uma atenuação no índice de caquexia quando comparados aos animais WT TB. A análise do desenvolvimento tumoral visível dos grupos demonstrou que a deleção da UCP1^{-/-} pode ter influenciado na eficácia do metabolismo tumoral, uma vez que os animais UCP1^{-/-} TB foram apresentar a visualização do tumor 4 dias depois do desenvolvimento visível dos animais WT TB (Figura 1D). Já foi descrito que a indução de caquexia por meio de células tumorais em camundongos resultou em um crescimento progressivo do tumor nos animais concomitante com a redução da massa corporal (JOURDAIN, 2018). Além disso observou-se que houve uma diferença na massa do tecido adiposo epididimal e TAM nos animais UCP1^{-/-} TB em relação aos WT TB (Figura 1E), uma vez que já foi descrito experimentalmente que na caquexia associada ao câncer induzida em camundongos resultou em uma redução na massa do TAM acompanhada de alterações morfológicas com redução do tamanho dos adipócitos e na gotícula de gordura, tais dados sugerem que com a deleção da UCP1 ocorreu uma preservação da redução da massa de tais tecidos (

Figura 1: Grupo selvagem controle (WT CO). Grupo selvagem tumor (WT TB). Grupo *knockouts* UCP1^{-/-} controle (UCP1^{-/-} CO). Grupo *knockouts* UCP1^{-/-} tumor (UCP1^{-/-} TB). (A) Ganho de massa corporal absoluta dos camundongos após 28 dias. (B) Porcentagem do ganho de massa dos camundongos. (C) Índice de caquexia dos grupos tumor selvagem e *knockouts* UCP1^{-/-}. (D) Acompanhamento da massa tumoral dos camundongos no decorrer dos 28 dias de experimento. (E) Massa relativa dos tecidos adiposo subcutâneo (SC), epididimal (EP), tecido adiposo marrom (TAM) e músculo gastrocnêmio (GA)



Na figura 2 são apresentados os dados referentes a temperatura dos camundongos UCP1^{-/-} CO e UCP1^{-/-} TB. A análise da temperatura superficial da pele demonstrou que os animais UCP1^{-/-} TB apresentaram uma maior emissão de calor concentrada na região interescapular, onde está localizado o TAM (Figura 2A), além disso também é apresentado uma temperatura corporal máxima mais elevada (Figura 1B) e uma tendência na temperatura máxima do TAM (Figura 1C) nos animais do grupo tumor em relação ao controle, sugerindo que tal emissão de calor seja provinda de um processo de termogênese independente de UCP1 promovido pelo desacoplamento de cálcio pela SERCA2b (IKEDA *et al.*, 2017)

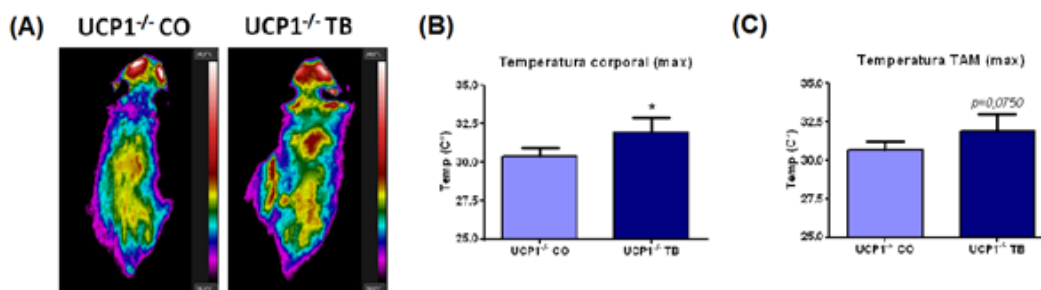
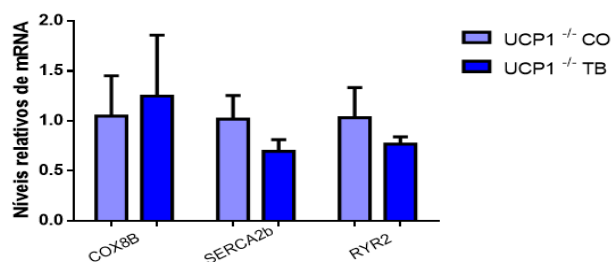


Figura 2: Grupo *knockouts* UCP1^{-/-} controle (UCP1^{-/-} CO). Grupo *knockouts* UCP1^{-/-} tumor (UCP1^{-/-} TB). (A) Análise colorimétrica dos camundongos *knockouts* UCP1^{-/-} controle e tumor. (B) Temperatura corporal máxima dos camundongos *knockouts* UCP1^{-/-} dos grupos controle e tumor. (C) Temperatura máxima do TAM para os camundongos *knockouts* UCP1^{-/-} controle e tumor.

Foi realizada a análise da expressão gênica por qPCR para os genes COX8b, SERCA2b e RYR2 entretanto não foi observada diferença estatística entre os grupos UCP1^{-/-} CO e UCP1^{-/-} TB (Figura 3). Sendo assim supõe-se que outras vias termogênicas, além da SERCA2b possam estar envolvidas no processo de termogênese dos animais UCP1^{-/-}.

Figura 3: Análise da expressão gênica por qPCR nos animais *knockouts* para UCP1 dos grupos controle (CO) e tumor (TB)



CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem a ocorrência da ativação de um processo de termogênese independente de UCP1, que por sua vez estaria auxiliando na resistência da redução de massa durante a síndrome da caquexia e cooperando para diminuição da eficácia no metabolismo tumoral e assim contribuindo para que os efeitos deletérios da síndrome sejam manifestados de forma mais branda no organismo.

REFERÊNCIAS

BATISTA JR, M. L. et al. Heterogeneous time-dependent response of adipose tissue during the development of cancer cachexia. **Journal of Endocrinology**, University of Mogi das Cruzes, n. 215, p. 363-373, 1 dez. 2012.

BIANCO, Antonio C. Hormônios Tireóideos, UCPs e Termogênese. **Arquivo brasileiro de endocrinologia e metabologia, São Paulo**, v. 44, n. 4, p. 281-289, abr. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/>. Acesso em: 08 set. 2018.

CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiological reviews**, [S.l.], v. 84, p. 277-359, jan. 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14715917>. Acesso em: 20 set. 2018.

FEARON, Kenneth et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. **The lancet oncology**, [S.l.], v. 12, n. 5, p. 489-495, maio. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21296615>. Acesso em: 01 set. 2018

IKEDA, Kenji et al. UCP1-independent signaling involving SERCA2b-mediated calcium cycling regulates beige fat thermogenesis and systemic glucose homeostasis. **Nature Medicine**, [S.l.], v. 23, n. 12, p. 1454-1465, dez. 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nm.4429>. Acesso em: 01 set. 2018.

JOURDAIN, Marie et al. Mouse models of cancer-induced cachexia: Hind limb muscle mass and evoked force as readouts. **Biochemical and Biophysical Research Communications**,

v. 503, n. 4, p. 2415-2420, set. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29969629>. Acesso em: 30 jan 2018.

PETRUZZELLI, Michele et al. A Switch from White to Brown Fat Increases Energy Expenditure in Cancer-Associated Cachexia. **Cell Metabolism**, [S.l.], v. 20, n. 3, p. 433-447, set. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com>. Acesso em: 02 out. 2018.

TSOLI, Maria et al. Activation of Thermogenesis in Brown Adipose Tissue and Dysregulated Lipid Metabolism Associated with Cancer Cachexia in Mice. **American Association for Cancer Research**, [S.l.], v. 72, n. 17, p. 4372-4382, set. 2012. Disponível em: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/72/17/4372>. Acesso em: 23 jan. 2019.