

Estudo da expressão do gene para a Lipase de Triglicerídeos de Tecido Adiposo (ATGL) utilizando como modelo o nematódeo *Caenorhabditis elegans*.

Raquel Calloni e Diego Bonatto

Universidade de Caxias do Sul

Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo de DNA- Instituto de Biotecnologia

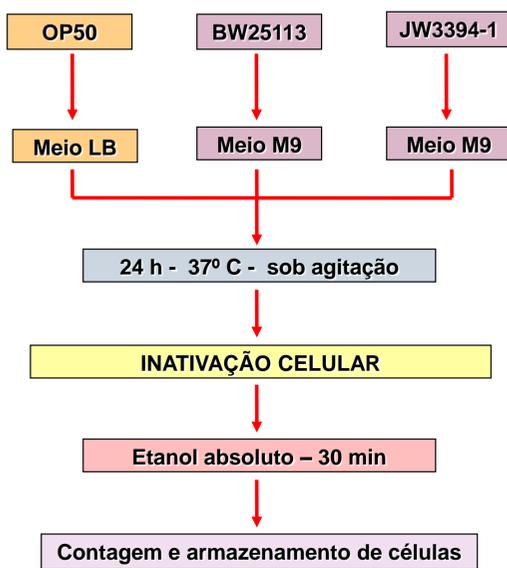
Projeto AGES

INTRODUÇÃO

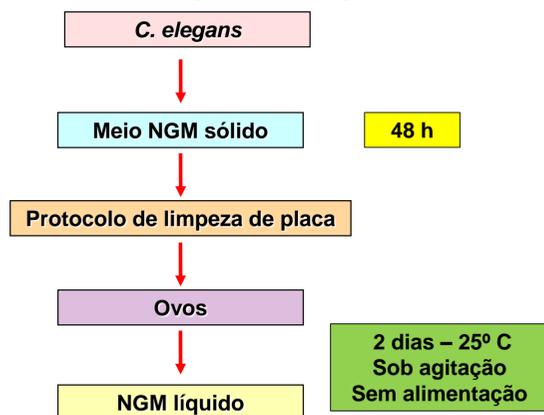
Uma das conseqüências do estilo de vida moderno é o aumento da incidência de obesidade em humanos, fato que é de importância para a área da saúde, devido ao grande número de doenças associadas a essa condição, e para a economia, uma vez que eleva os gastos governamentais com saúde pública. Para compreender a patofisiologia da obesidade, é necessário entender os mecanismos envolvidos no armazenamento e na mobilização de triglicerídeos (TG) no organismo. Recentemente, uma nova lipase que atua sobre triglicerídeos foi identificada. Denominada de lipase de triglicerídeos de tecido adiposo (ATGL), esta enzima media a remoção de um ácido graxo da molécula de TG gerando um ácido graxo livre e um diglicerídeo. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo estudar a expressão do gene para a lipase ATGL no organismo modelo *Caenorhabditis elegans* alimentado com dietas normo (linhagem BW25113, selvagem para o acúmulo de glicogênio) e hipercalórica (JW3394-1, hiperacumuladora de glicogênio) e de manutenção de linhagem (OP50, dieta de manutenção de linhagem) por meio da técnica de RT-PCR semi-quantitativo. Para efetuar este estudo, se fez necessário também o desenvolvimento de um protocolo de sincronização, cultivo e alimentação para o organismo.

MATERIAIS E MÉTODOS

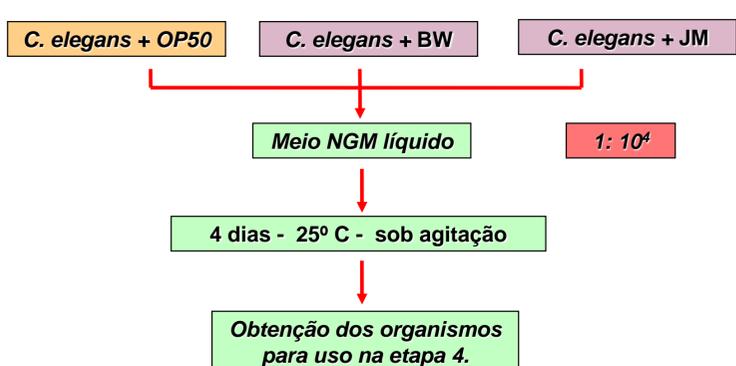
1ª ETAPA: cultivo e inativação de células de *E. coli*



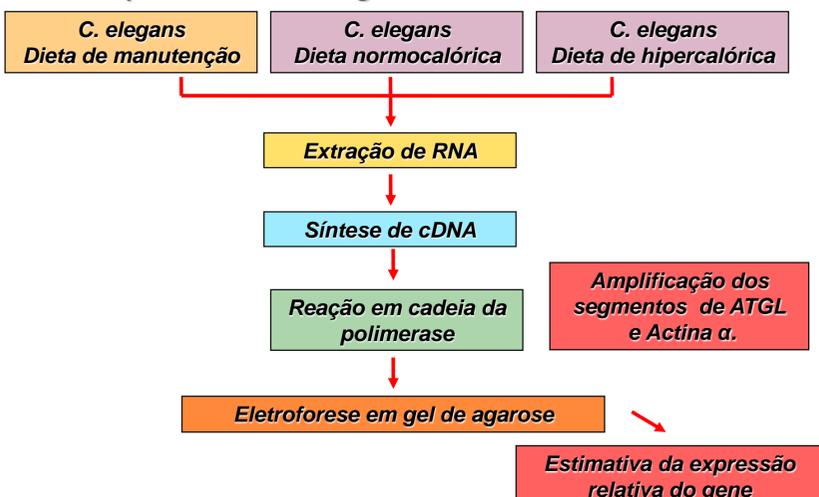
2ª ETAPA: cultivo e sincronização de *C. elegans*



3ª ETAPA: alimentação de *C. elegans* com três diferentes dietas



4ª ETAPA: protocolos de biologia molecular



RESULTADOS

Os dados preliminares revelam que o protocolo de alimentação e cultivo dos organismos para obtenção do RNA é efetivo para os fins aos quais se propõe, sendo que foi possível obter RNA de qualidade nas três diferentes condições testadas.

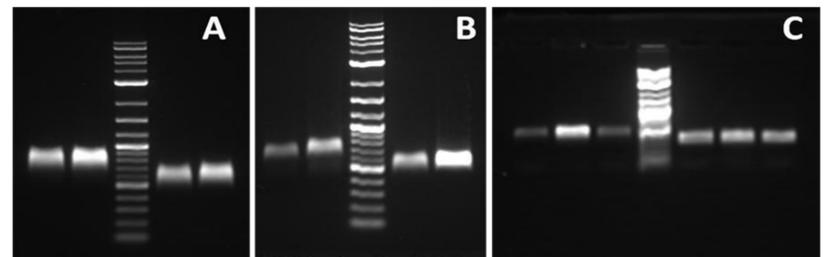


FIGURA 1: Eletroforese em gel de agarose dos produtos da PCR dos cultivos de *C. elegans* alimentado com as linhagens OP50 (A), BW25113 (B) e JW 3394-1 (C). As bandas a esquerda do marcador de peso molecular correspondem à amplificação de ATGL e as bandas à direita correspondem a Actina α .

O valor de expressão relativa de ATGL no ensaio com a linhagem OP50 mostrou-se maior que o observado no ensaio com a linhagem BW 25113. Porém, a análise estatística dos resultados revelou que não há diferença significativa entre os valores. A expressão do gene em estudo se mostrou inferior aos dois tratamentos no ensaio com a linhagem hipercalórica, porém, também sem diferença estatística devido ao elevado valor do desvio padrão (Figura 2).

A não observação de diferença estatística nos níveis de expressão entre a dieta normocalórica e a hipercalórica não está em conformidade com os dados observados na literatura. Esta aponta que valores baixos de expressão para ATGL são esperados quando a quantidade de calorias na dieta é alta e o contrário se observa para altos níveis de calorias. Desta forma, o experimento com a linhagem JW 3394-1 será repetido para a confirmação dos dados.

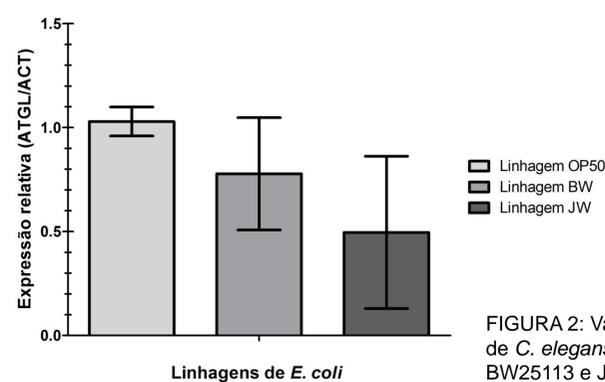


FIGURA 2: Valores de expressão relativa de ATGL de *C. elegans* alimentado com as linhagens OP50, BW25113 e JW 3394-1.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados parciais, conclui-se que:

-a metodologia empregada na obtenção do RNA de *C. elegans* é efetiva para os fins que se propõe;

- os níveis de expressão relativa do gene em estudo se mostraram maiores no experimento com a linhagem OP50, seguidos pela linhagem normocalórica e pela hipercalórica, porém, sem diferença estatística;

PERSPECTIVAS

- Confirmar os dados do experimento utilizando a linhagem hipercalórica JW 3394-1;

-Determinar, nas três condições testadas, os níveis de deposição de lipídeos no organismo modelo utilizando um corante lipofílico e microscopia de fluorescência.