

**JULIANE BRAGA MIRANDA**

**PAPEL DA METILTRANSFERASE SET7 NAS ALTERAÇÕES  
METABÓLICAS E CARDIOVASCULARES PROMOVIDAS PELA  
OBESIDADE EM FÊMEAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas, da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

**São Paulo**

**2021**

**JULIANE BRAGA MIRANDA**

**PAPEL DA METILTRANSFERASE SET7 NAS ALTERAÇÕES  
METABÓLICAS E CARDIOVASCULARES PROMOVIDAS PELA  
OBESIDADE EM FÊMEAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas, da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gabriela Placoná Diniz

Versão Original

**São Paulo**

**2021**

## Resumo

MIRANDA, J. **Papel da metiltransferase SET7 nas alterações metabólicas e cardiovasculares induzidas pela obesidade em fêmeas.** 2021. 71 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Sistemas) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

A obesidade vem crescendo no mundo de forma alarmante e junto com ela a incidência de diversas comorbidades, como as doenças metabólicas e cardiovasculares. Os mecanismos epigenéticos, capazes de regular a expressão de genes, vem sendo amplamente estudados no contexto de diversas doenças, inclusive na obesidade. A SET7 é uma metiltransferase capaz de modificar diversas proteínas histonas e não histonas, dentre elas, proteínas já descritas em vias relacionadas com a obesidade. Apesar disso, o papel dessa enzima nas alterações metabólicas e cardiovasculares desencadeadas pela obesidade ainda não foi descrito. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar o papel da SET7 nas alterações metabólicas e cardiovasculares promovidas pela obesidade em fêmeas. Para responder a esse objetivo, utilizamos camundongos fêmeas wild type ou knockout com deleção total da SET7, as quais foram induzidas à obesidade através de uma dieta hipercalórica durante 13 ou 20 semanas. Utilizamos também células 3T3-L1 tratadas com um inibidor específico da SET7 [(R)-PFI] a fim de avaliar o papel da SET7 na diferenciação de adipócitos *in vitro*. Além do modelo *in vivo* e *in vitro*, avaliamos em um modelo *ex vivo* o papel da SET7 na função cardíaca antes e após isquemia e reperfusão através do sistema de Langendorff. Os resultados mostram que a expressão proteica da SET7 é aumentada no coração e no tecido adiposo de fêmeas obesas, mas não em machos obesos. Mostramos também que a deleção global da SET7 não altera o ganho de peso e adiposidade induzida pela dieta hipercalórica em fêmeas, mas é capaz de prevenir a intolerância à glicose. Experimentos *in vitro* revelaram que a inibição da SET7 em células 3T3-L1 induzidas à diferenciação em adipócitos não alterou o conteúdo lipídico ou a expressão de marcadores de adipogênese avaliados por Western Blot. No âmbito cardiovascular, a deleção da SET7 não alterou a hipertrofia cardíaca induzida pela dieta hipercalórica, nem a função cardíaca basal em fêmeas. No entanto, a perda da SET7 preveniu o comprometimento da função cardíaca em fêmeas tratadas com dieta hipercalórica após isquemia e reperfusão. Dessa forma, em conjunto, nossos resultados sugerem que a SET7 influencia a intolerância à glicose induzida pela dieta hipercalórica, bem como a função cardíaca após isquemia e reperfusão.

**Palavras-chave:** obesidade, fêmeas, intolerância à glicose, isquemia/reperfusão, SET7.

## Abstract

MIRANDA, J. **Role of SET7 methyltransferase in obesity-induced metabolic and cardiovascular alterations in females.** 2021. 71 f. Dissertation (Masters in Systems Biology) – Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2021.

Obesity has growing in an alarming way in the world and along with it the incidence of several comorbidities, such as metabolic and cardiovascular diseases. The epigenetic mechanisms, which are able to regulate gene expression, have been studied in the context of various diseases, including in obesity. SET7 is a methyltransferase that can alter several histone and non-histone proteins, including proteins already described in obesity-related complications. Despite this, the role of this enzyme in metabolic and cardiovascular changes triggered by obesity remains unclear. In this sense, the aim of this study was to evaluate the role of SET7 in metabolic and cardiovascular changes induced by obesity in females. To address this question, we used wild-type or knockout female mice with total SET7 deletion, which were induced to obesity through a hypercaloric diet for 13 or 20 weeks. We also used 3T3-L1 cells treated with a specific SET7 inhibitor [(R)-PFI] to assess the role of SET7 in adipocyte differentiation in vitro. In addition to the in vivo and in vitro models, we evaluated in an ex vivo model the role of SET7 in cardiac function before and after ischemia and reperfusion using the Langendorff system. The results showed that SET7 protein expression is increased in the heart and adipose tissue of obese females, but not in obese males. We also showed that the global deletion of SET7 does not alter the weight gain and adiposity induced by hypercaloric diet in females, but it is able to prevent glucose intolerance. In vitro experiments showed that the inhibition of SET7 in 3T3-L1 cells induced to differentiate into adipocytes did not alter the lipid content or the expression of adipogenesis markers evaluated by Western Blot. In the cardiovascular context, the SET7 deletion did not alter the cardiac hypertrophy induced by hypercaloric diet, nor the basal cardiac function in females. However, the loss of SET7 prevented the impairment of cardiac function in females fed a hypercaloric diet after ischemia and reperfusion. Taken together, our results suggest that SET7 influences glucose intolerance induced by hypercaloric diet, as well as cardiac function after ischemia and reperfusion.

**Keywords:** obesity, females, glucose intolerance, ischemia/reperfusion, SET7.

## 1. INTRODUÇÃO

A obesidade pode ser classificada como uma doença crônica não transmissível que tem como característica o acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo. Apesar da obesidade ter uma origem multifatorial, sabe-se que o estilo de vida não saudável é o principal fator desencadeador da doença. O aumento da ingestão de alimentos ricos em gorduras e carboidratos combinado ao sedentarismo resulta em um saldo energético positivo, sendo o excesso energético armazenado como gordura (CHURCH; THOMAS; TUDOR-LOCKE; KATZMARZYK *et al.*, 2011; LOCKE; KAHALI; BERNDT; JUSTICE *et al.*, 2015; OJEDA-RODRÍGUEZ; ZAZPE; MORELL-AZANZA).

A obesidade é fator de risco para o desenvolvimento de diversas doenças, dentre elas as doenças cardiovasculares (DCV) e metabólicas. No que se refere ao sistema cardiovascular, a obesidade está frequentemente associada ao aumento de risco de doenças coronarianas e insuficiência cardíaca. Embora a relação entre obesidade e as DCV esteja bem caracterizada na literatura, pouco ainda se sabe a respeito dos mecanismos biológicos envolvidos no desenvolvimento e progressão das DCV decorrentes da obesidade.

Os mecanismos epigenéticos atuam em diversos processos celulares fisiológicos (TZIKA; DREKER; IMHOF, 2020). Estudos recentes revelaram que o perfil epigenético do indivíduo pode ser modulado por diversos fatores ambientais como, por exemplo, a alimentação (ROMANI; PISTILLO; BANELLI, 2015). Dentre os mecanismos epigenéticos conhecidos podemos citar as modificações das histonas (PAPAIT; GRECO; KUNDERFRANCO; LATRONICO *et al.*, 2013). Dentre as principais modificações das histonas destaca-se a metilação, que atua na regulação transcricional e no controle da expressão gênica (KOUZARIDES, 2007). A metilação é controlada por enzimas metiltransferases e demetilases, que são capazes de adicionar ou retirar grupos metil.

Estudos recentes revelaram a contribuição de diferentes enzimas que controlam a metilação e demetilação das histonas no desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades (INAGAKI; TACHIBANA; MAGOORI; KUDO *et al.*, 2009; TATEISHI; OKADA; KALLIN; ZHANG, 2009).

A SET7 é uma metiltransferase capaz de metilar proteínas histonas e não-histonas (OKABE; ORLOWSKI; BALCERCZYK; BATISTA; HELGUERO, 2018). Esta enzima é capaz de influenciar vias celulares que modulam diversas doenças como, por exemplo, câncer, diabetes, fibrose e inflamação (KEATING; EL-OSTA, 2013). No entanto, o papel desta enzima nas desordens cardiovasculares e metabólicas desencadeadas pela obesidade é desconhecido. Sabendo que a obesidade promove desordens cardiometabólicas e que a SET7 tem como alvo diversas proteínas envolvidas na fisiopatologia cardíaca e metabólica, neste estudo caracterizamos a contribuição da SET7 nas alterações metabólicas e cardiovasculares de fêmeas induzidas à obesidade.

## **2. Conclusão**

Neste trabalho observamos que a expressão da SET7 é inalterada no coração e tecido adiposo de machos obesos, mas por outro lado, é aumentada em ambos os tecidos de fêmeas obesas.

Além disso, demonstramos que a deleção da SET7 não alterou o ganho de peso e adiposidade induzidas pela dieta hipercalórica em fêmeas. De forma similar, estudos *in vitro* mostraram que a inibição farmacológica de SET7 não alterou a diferenciação de adipócitos brancos.

Nossos resultados revelaram ainda que a perda da SET7 não interferiu no aumento da glicemia de jejum em fêmeas obesas, mas foi capaz de prevenir a intolerância à glicose induzida pela dieta hipercalórica.

Neste estudo também demonstramos que a deleção da SET7 não alterou a hipertrofia cardíaca promovida pela dieta hipercalórica.

Ensaio *ex vivo* de Langendorff revelaram que a dieta hipercalórica promoveu um prejuízo na função contrátil cardíaca em fêmeas wild type antes e após isquemia e reperfusão. No entanto, as fêmeas com deleção da SET7 tratadas com dieta hipercalórica, apesar de também apresentarem prejuízo funcional durante o período de estabilização, exibiram valores similares aos observados nas suas respectivas controles após o período de reperfusão.

Em conjunto, os resultados obtidos nesta dissertação sugerem que a SET7 exerce um importante papel no desenvolvimento da intolerância à glicose

e no comprometimento da função cardíaca em fêmeas obesas após isquemia e reperfusão.

## REFERÊNCIAS

BATISTA, I. A. A.; HELGUERO, L. A. Biological processes and signal transduction pathways regulated by the protein methyltransferase SETD7 and their significance in cancer. **Signal Transduct Target Ther**, 3, p. 19, 2018.

CHURCH, T. S.; THOMAS, D. M.; TUDOR-LOCKE, C.; KATZMARZYK, P. T. *et al.* Trends over 5 decades in U.S. occupation-related physical activity and their associations with obesity. **PLoS One**, 6, n. 5, p. e19657, 2011.

HOSSAIN, P.; KAWAR, B.; EL NAHAS, M. Obesity and diabetes in the developing world--a growing challenge. **N Engl J Med**, 356, n. 3, p. 213-215, Jan 2007.

INAGAKI, T.; TACHIBANA, M.; MAGOORI, K.; KUDO, H. *et al.* Obesity and metabolic syndrome in histone demethylase JHDM2a-deficient mice. **Genes Cells**, 14, n. 8, p. 991-1001, Aug 2009.

KEATING, S. T.; EL-OSTA, A. Transcriptional regulation by the Set7 lysine methyltransferase. **Epigenetics**, 8, n. 4, p. 361-372, Apr 2013b.

KOUZARIDES, T. Chromatin modifications and their function. **Cell**, 128, n. 4, p. 693-705, Feb 2007.

OJEDA-RODRÍGUEZ, A.; ZAZPE, I.; MORELL-AZANZA, L.; CHUECA, M. J. *et al.* Improved Diet Quality and Nutrient Adequacy in Children and Adolescents with Abdominal Obesity after a Lifestyle Intervention. **Nutrients**, 10, n. 10, Oct 2018.

OKABE, J.; ORLOWSKI, C.; BALCERCZYK, A.; TIKELLIS, C. *et al.* Distinguishing hyperglycemic changes by Set7 in vascular endothelial cells. **Circ Res**, 110, n. 8, p. 1067-1076, Apr 2012.

PAPAIT, R.; GRECO, C.; KUNDERFRANCO, P.; LATRONICO, M. V. *et al.* Epigenetics: a new mechanism of regulation of heart failure? **Basic Res Cardiol**, 108, n. 4, p. 361, Jul 2013.

ROMANI, M.; PISTILLO, M. P.; BANELLI, B. Environmental Epigenetics: Crossroad between Public Health, Lifestyle, and Cancer Prevention. **Biomed Res Int**, 2015, p. 587983, 2015.

TATEISHI, K.; OKADA, Y.; KALLIN, E. M.; ZHANG, Y. Role of Jhdm2a in regulating metabolic gene expression and obesity resistance. **Nature**, 458, n. 7239, p. 757-761, Apr 2009.

TZIKA, E.; DREKER, T.; IMHOF, A. Corrigendum: Epigenetics and Metabolism in Health and Disease. **Front Genet**, 11, p. 428, 2020.