



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Aplicadas

Aluno: Julia Boro de Lima RA: 255647

Orientador: Prof. Dr. Dennys Esper Cintra

Avaliação da expressão dos genes FADS1/2 e ELOVL2/5 no músculo de camundongos obesos e exercitados.

1. Resumo

Introdução: Atualmente, a obesidade atinge cerca de um bilhão de pessoas no mundo, sendo a doença base para o aparecimento de diversas outras, crônicas e não transmissíveis. Essa doença traz grande impacto sobre o padrão na expressão gênica de alvos relacionados ao metabolismo lipídico. Por outro lado, o exercício físico se comporta como tratamento não medicamentoso a obesidade, podendo modular tanto o padrão de genes quanto o perfil lipídico em praticantes de atividade física. Estudos preliminares demonstraram que o exercício físico aumenta a síntese do ácido graxo docosahexaenóico (DHA), membro da família do omega-3, no músculo de camundongos exercitados. No entanto, não é sabido quais os mecanismos envolvidos nesse controle. Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar o padrão de resposta genômica no músculo de camundongos eutróficos, sedentários ou exercitados, e obesos, sedentários ou exercitados, no que tange os genes controladores de vias biossintéticas de lipídios, como os da enzimas dessaturases (Fads1/2) e elongases (Elovl2/5). **Materiais e Métodos:** Para isso, 24 camundongos Swiss Albinos, machos, foram distribuídos em quatro grupos experimentais (N=6). Doze animais foram mantidos em dieta comercial controle (CT) e os demais, alimentados com dieta rica em gordura (HF). Após 30 dias de protocolo alimentar, um subgrupo de animais foram submetidos ao exercício físico crônico, dando início aos grupos CTEX e HFEX, enquanto os demais foram mantidos em sedentarismo.

Houve adaptação em esteira motorizada, por 5 dias consecutivos, com duração de 5 minutos, em velocidade simbólica. Ambos foram gradualmente aumentados e, ao final da adaptação, os animais corriam por 20 minutos, em velocidade de 5 metros

por minuto. Foi realizado o teste de carga incremental para definição da capacidade máxima de exercício de cada grupo. Posteriormente, os grupos foram treinados com o objetivo de alcançarem a intensidade de 60% da velocidade referente à capacidade máxima de trabalho, durante 4 semanas, 5 dias por semana, por 60 minutos. Ao final do período experimental, todos os animais foram eutanasiados e o músculo gastrocnêmio foi retirado para análise em RT-qPCR dos genes *Fads1*, *Fads2*, *Elovl2* e *Elovl5*. **Hipótese:** Espera-se que o exercício altere positivamente o padrão de expressão das enzimas dessaturases e elongases aumentando a capacidade de síntese de ácidos graxos polinsaturados, ao passo que a obesidade cause alterações negativas nesses genes, prejudicando tal síntese. Nesse contexto, busca-se avaliar o potencial do exercício físico em reverter tais alterações.

Palavras-chave: Ácidos graxos polinsaturados, Ômega-3; Exercício físico; Obesidade; Elongases; Dessaturases.

2. Material e Métodos

Coleta do material biológico

Vinte e quatro horas após a última sessão de exercício os camundongos foram anestesiados com cloridrato de cetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), via intraperitoneal. Após perda dos reflexos pedal e corneal, o músculo gastrocnêmio da pata direita e esquerda foi extraído e armazenado a -80 °C para análise de expressão gênica.

RT-qPCR

Fragments do músculo foram homogeneizados em PureZOL RNA *Isolation Reagent* (Bio-Rad), no *Tissue Lyser II* (Qiagen). O RNA total foi isolado de acordo com as recomendações do fabricante e quantificado por meio do *Nanodrop 8000* (Thermo Scientific). Uma alíquota de RNA total contendo 2 µg foi utilizada para síntese de cDNA, com o kit *High Capacity - cDNA Reverse Transcription* (ThermoFisher), no *AgileCycler* (Avans). Para a reação de qPCR utilizou-se *iTaq Universal SYBR Green Supermix* (Bio-Rad), no equipamento *7500 Fast Real-Time PCR* (ThermoFisher). Para as análises, adotou-se quantificação pelo $\Delta\Delta Ct$,

verificação da amplificação das amostras e do NTC (*No Template Control*) na *melt curve*.

3. Resultados

Dieta HF induz aumento da ingestão calórica e ganho de peso, revertidos pelo exercício físico.

Ao considerar 3,37 kcal/g de dieta controle e 5,43 kcal/g de dieta HF, tanto a ingestão calórica diária (Fig. 1B) quanto a total (Fig. 1C) foram maiores no grupo HF em comparação com o grupo controle (CT) desde as primeiras semanas do protocolo ($P < 0,05$). O exercício físico, nesse modelo experimental de obesidade, reduziu significativamente ($P < 0,05$) tal ingestão. Similarmente, a dieta HF aumentou a eficiência energética dos animais (Fig. 1D), e o exercício físico reverteu essa situação, mesmo quando comparados apenas os grupos alimentados com dieta CT ($P < 0,05$). Após 4 semanas de dieta HF, observou-se aumento ($P < 0,05$) do peso corporal final (Fig. 1E) e entre o delta de peso final vs inicial (Fig. 1F), quando comparados ao grupo CT. Ao final do protocolo, a diferença de peso foi ainda mais acentuada, conforme observado na evolução ponderal semanal (Fig. 1G). Já o exercício físico demonstrou-se capaz de reverter tal quadro.

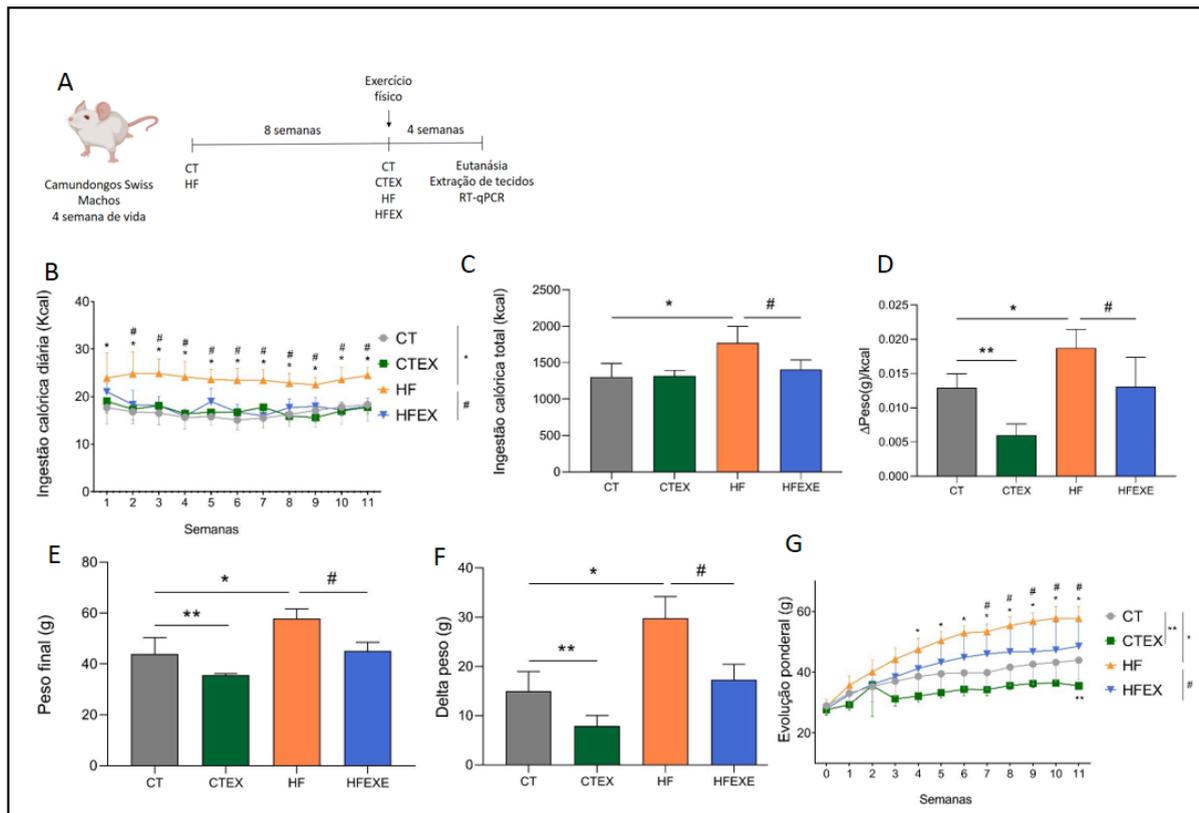


Figura 1:

*CT vs HF; **CT vs CTEX; #HF vs HFEX. Teste Tukey.

(A) Camundongos Swiss machos com 4 semanas de idade foram alimentados com ração normal (CT, N=12) ou dieta rica em gordura (HF, N=12) por 8 semanas. Após o protocolo alimentar, os animais foram divididos em quatro grupos, mantidos nas dietas CT ou HF: CT sedentário (CT), CT exercitado (CTEX), HF sedentário (HF) e HF exercitado (HFEX). Após 4 semanas de exercício físico, os animais foram eutanasiados, os tecidos alvo extraídos e realizada a análise gênica. **(B)** A ingestão calórica diária foi calculada considerando: CT = 3,37 kcal/g; HF = 5,43 kcal/g. Os dados mostram as kcal/g ingeridas pelos animais durante as semanas de protocolo, evidenciando que o grupo HF manteve maior ingestão comparado ao CT e HFEX. **(C)** A ingestão calórica total ao longo do protocolo, com o grupo HF apresentando maior consumo calórico total em comparação aos grupos CT e HFEX. **(D)** A eficiência energética dos animais, medida como delta peso (g) / kcal, foi aumentada no grupo HF comparado ao CT. O exercício físico reduziu esse parâmetro tanto no grupo CT (CT vs. CTEX) quanto no grupo HF (HF vs. HFEX). **(E)** O peso final dos animais, em gramas, demonstrou um aumento significativo no grupo HF, enquanto os grupos exercitados (CTEX e HFEX) apresentaram redução de peso comparado aos seus respectivos controles. **(F)** O delta de peso (peso final menos peso inicial) também mostrou um aumento no grupo HF, com diminuição significativa nos grupos exercitados. **(G)** A evolução ponderal ao longo das semanas mostrou as diferenças no ganho de peso entre os grupos, com o grupo HF apresentando maior ganho de peso e os grupos exercitados mostrando menor ganho em comparação aos seus controles.

4. Conclusão:

Até o momento, conclui-se que a dieta HF foi eficiente em induzir obesidade no modelo experimental, evidenciado pelo consumo calórico, resultando em ganho de peso elevado. O exercício físico reduziu tal consumo, impactando negativamente no ganho de peso. Portanto, o modelo experimental de obesidade, assim como a proteção associada ao exercício, foram eficientes.

Dados moleculares serão entregues no relatório final.

5. Referências:

1. NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, [s.l.], published online February 29, 2024.
2. ANDERSSON, Agneta; SJÖDIN, Anders; OLSSON, Roger; VESSBY, Bengt. Effects of physical exercise on phospholipid fatty acid composition in skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 274, n. 2, p. E432–E438, 1998.
3. Pérez-Schindler, J., Kanhere, A., Edwards, L., Allwood, J. W., Dunn, W. B., Schenk, S., & Philp, A. (2017). Exercise and high-fat feeding remodel transcript-metabolite interactive networks in mouse skeletal muscle. *Scientific Reports*, 7, 13485.