IMPACTO DA OBESIDADE MATERNA NOS FATORES DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA E MIGRAÇÃO CELULAR EM CÉLULAS DE TROFOBLASTOS

Palavras-Chave: Obesidade materna, Placenta, IGF

Autores:

ANA RAQUEL MARCON FOLTZ, FCA – UNICAMP

ANA PAULA VARELA SANCHES, FCA – UNICAMP (Co-orientadora)

BEATRIZ PIATEZZI SIQUEIRA, FCA – UNICAMP

LAÍS ANGÉLICA DE PAULA SIMINO, FCA – UNICAMP

LAILTON OLIVEIRA DA SILVA, FCA – UNICAMP

MÁRCIO ALBERTO TORSONI, FCA – UNICAMP

ADRIANA SOUZA TORSONI, FCA – UNICAMP

MARCIANE MILANSKI, FCA – UNICAMP

PROFª. DRª. LETICIA MARTINS IGNACIO DE SOUZA, FCA – UNICAMP (Orientadora)

INTRODUÇÃO:

A obesidade materna é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de complicações (VARMALOV, 2025), que afetam tanto a saúde da mãe quanto do bebê, como a pré-eclâmpsia, diabetes mellitus gestacional (DMG), partos prematuros, mortalidade pré natal e desordens no crescimento fetal. Tais desfechos relacionam-se às alterações uterinas e placentárias que ocorrem em gestações com obesidade. Ademais, estudos pré-clínicos mostram o impacto dela a longo prazo na saúde da prole associada ao maior risco de doenças na fase adulta. (GODFREY, et al., 2016).

A placenta é o órgão temporário que faz a interface entre o corpo da mãe e do bebê, onde ocorre as trocas de nutrientes, oxigênio, metabólitos e hormônios. Em especial, a placentação é a formação da placenta e fixação do embrião no endométrio, processo no qual os trofoblastos, as células que a constituem, precisam invadir e migrar para o interstício do endométrio, a fim de remodelar as artérias uterinas e conectá-las ao embrião, concedendo um suprimento sanguíneo satisfatório. É, portanto, imprescindível para o desenvolvimento adequado do feto (BURTON, et al., 2015).

Entretanto, frente ao ambiente de obesidade, a placenta sofre prejuízos na sua função e crescimento, decorrente do aumento do estado inflamatório, estresse oxidativo, hiperinsulinemia, dislipidemia e distúrbios na vascularização (SCHENKELAARS, et al.,

2025). Sob essa ótica, os fatores de crescimento semelhante à insulina (IGF) em conjunto com a insulina, são hormônios que promovem a proliferação, migração e diferenciação nas células placentárias e fetais, além de estarem relacionados com o transporte de nutrientes, migração dos trofoblastos e metabolismo da placenta (KELLY, et al., 2020). Alterações nas vias do IGF e da insulina em consequência de uma gestação com obesidade podem estar associadas aos desfechos negativos citados anteriormente, porém os mecanismos que os englobam ainda não são claros.

Sendo assim, nosso projeto buscou avaliar a modulação das vias de sinalização do IGF e da insulina, através da via AKT/mTOR, na placenta de animais com obesidade. Ademais, ensaios de migração celular foram elaborados a fim de investigar a capacidade de migração de trofoblastos em meio obesogênico.

METODOLOGIA:

Questões éticas e animais experimentais

Foram utilizadas amostras de tecidos placentários de camundongos Swiss fêmeas (CEUA nº 6390-1/2024), provenientes do projeto de uma aluna de doutorado do mesmo grupo, que deu origem à este trabalho.

Primeiramente, os animais foram divididos em dois grupos: um que recebeu a dieta controle e o grupo que recebeu a dieta rica em gordura (45% das calorias provenientes de lipídios), ao longo de quatro semanas. Após esse período, os animais que receberam a dieta hiperlipídica foram divididos em dois grupos: resistentes ao desenvolvimento de obesidade (HFR) e propensos ao desenvolvimento de obesidade (HFP). Essa divisão é feita a partir da média do peso dos animais que consumiram a dieta hiperlipídica; aqueles que ficaram acima dessa média são classificados como propensos, e os animais abaixo, como resistentes.

Depois da classificação, foi feito o acasalamento e acompanhamento da gestação, durante 19 dias, em que as dietas controle e hiperlipídica são continuamente administradas, e posteriormente realizado a eutanásia e extração dos tecidos da placenta para análise de Western Blotting a fim de avaliar o conteúdo proteico dos alvos IGF, AKT e mTOR, participantes da via da insulina e IGF.

Cultura de Células e Ensaio de Invasão

A linhagem de células trofoblásticas originadas de coriocarcinoma, denominadas BeWo, foram utilizadas para realização dos ensaios de invasão celular sob ambiente de obesidade, caracterizado pelo nosso modelo experimental (SANCHES et al., 2022). As células foram cultivadas em meio RPMI 1640, contendo 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina e estreptomicina.

Para avaliar qualitativamente a migração celular dos trofoblastos, efetuamos o ensaio de invasão celular, descrito por Monaco, et al., (2009), que consiste em semear as células em placas das 24 poços, até atingir uma camada de confluência, e tratá-las com palmitato 0,3mM, adiponectina 1uL/mL e insulina 100nM, para reproduzir o meio obesogênico correspondente ao modelo citado anteriormente. A partir disso, é feita a

raspagem de cada poço com uma ponteira de 200uL, a fim de inferir uma área vazia.

As células foram fotografadas com microscópio óptico no tempo 0 (assim que houve a raspagem), 6h, 24h e 48h, mantendo os tratamentos e sem lavagens intermediárias. A lesão foi quantificada usando o software ImageJ e os resultados foram expressos como % de reinvasão da área raspada em comparação com o tempo 0.

Todos os resultados foram apresentados como média desvio padrão, e empregada significância estatística p<0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

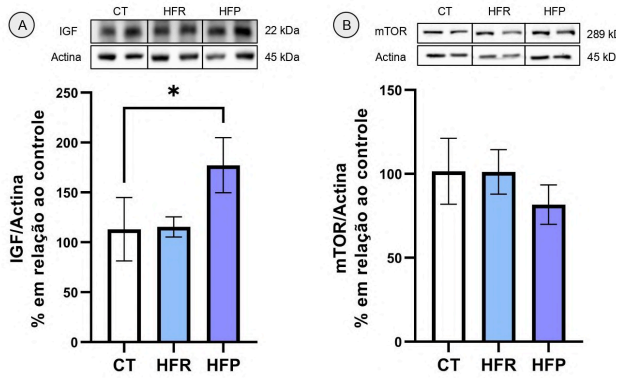

Figura 1: Conteúdo protéico de IGF e mTOR, proteína participante da sinalização da insulina e IGF. (A) Nível de proteína do IGF. (B) Nível de proteína da mTOR. n= CT (n=6), HFR (n=4) e HFP (n=3). Os valores são mostrados como média ± erro padrão da média. *p ≤0,05. *One-Way ANOVA*, seguido do teste *post-hoc Tukey*.

O IGF apresentou níveis aumentados no grupo HFP em comparação com o controle. Níveis maiores de IGF foram encontrados em placentas de mães com obesidade (MARTÍN-ESTAL, et al., 2022), causando disfunções metabólicas e possível modulação no crescimento feto-placentário. Outros estudos também associam os níveis de IGF e insulina com macrossomia fetal, tendo em vista o importante papel desses hormônios no transporte de nutrientes para o bebê (OLAUSSON, et al., 2010). A razão para o crescimento fetal excessivo seria a ativação das vias intracelulares pelo IGF e insulina, aumentando o fornecimento de nutrientes e favorecendo a adiposidade. (KELLY, et a., 2022)

Entretanto, ao avaliar a proteína mTOR, alvo a jusante dessa via, não foi observado maior conteúdo proteico. Isso possivelmente indica que as células placentárias não estão respondendo ao sinal do IGF e da insulina, corroborando para dados anteriores do nosso grupo de menor peso da placenta e menor crescimento da prole.

A Adiponectina é uma adipocina importante na sensibilização da insulina, tem relação inversa com a obesidade, diabetes e crescimento fetal em humanos (HOWELL, 2018). Tendo isso em vista, dados do nosso grupo já demonstraram que os níveis de adiponectina estavam aumentados em camundongos Swiss fêmeas, o que poderia representar uma resposta materna à resistência à insulina, e, no ambiente placentário, uma menor ativação da via IGF/Insulina intracelular e consequente baixo crescimento fetal (SANCHES, et al. 2022), em consonância com os resultados apresentados acima.

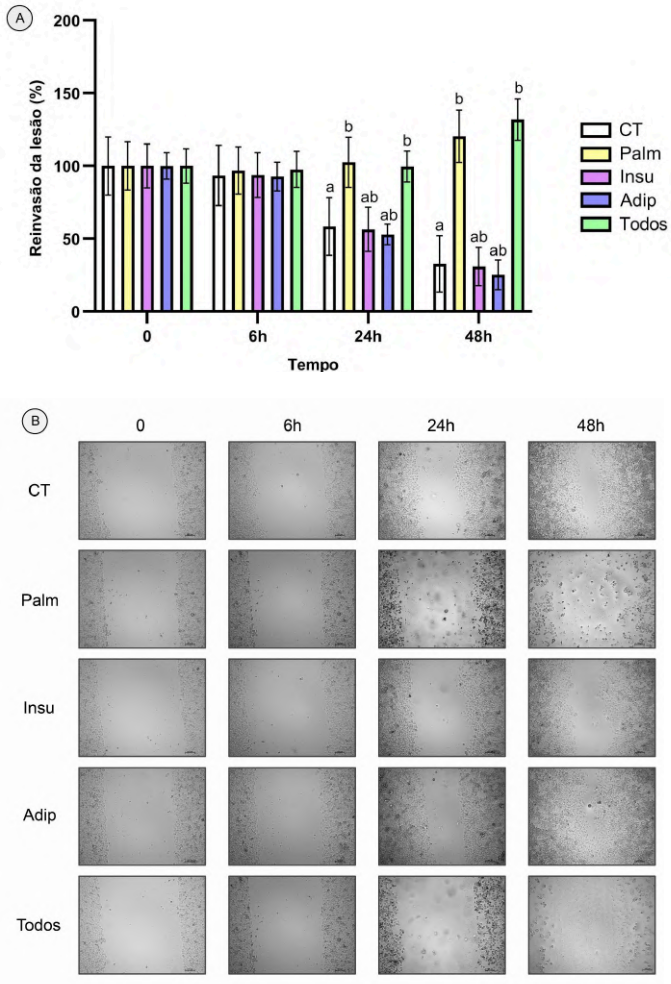

Figura 2: Ensaio de invasão celular. (A) Reinvasão da área raspada em porcentagem nos tempos 0, 6 horas, 24 horas e 48 horas após a lesão. (B) Imagens representativas das células BeWo. Os valores são mostrados como média ± erro padrão da média. *One-Way ANOVA*, seguido do teste *post-hoc Tukey*. As letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos.

Os resultados do ensaio de invasão celular apresentaram uma menor invasão do grupo tratado com palmitato e com todos os tratamentos em relação ao controle. Esses dados sugerem que o palmitato foi o fator crucial que afetou as células e a migração, tendo em vista que a insulina e a adiponectina isolada não apresentaram diferença em relação ao grupo controle. Entretanto, ao combinar todos os tratamentos, a insulina e a adiponectina parecem não reverter ou intensificar os efeitos negativos do palmitato, em que o resultado da migração foi praticamente o mesmo. Também é possível observar nas imagens representativas dos grupos Palm e Todos que houve um grande espaçamento entre as células conforme o passar dos tempos e uma regressão da monocamada confluente, indicando morte celular.

O ambiente lipotóxico causado pelo palmitato foi visto em outros estudos com células BeWo, em que o tratamento com ácidos graxos saturados foi capaz de modular positivamente a expressão de genes únicos envolvidos na resposta inflamatória e na produção de citocinas pró inflamatórias (SABEN, 2013), acompanhando os mesmos achados em placentas de mães obesas. Acreditamos que o estresse oxidativo a partir do desequilíbrio da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) também tenha participação nos resultados observados. O estresse oxidativo e a inflamação na obesidade materna possuem uma interação complexa, em que citocinas inflamatórias estimulam a produção de EROS, que por sua vez estimula diferentes vias de inflamação, exacerbando os efeitos negativos de ambas.

Ainda são escassos na literatura dados com células BeWo tratadas com meio obesogênico relacionados à migração, evidenciando a relevância dessas análises. Considerando o papel da migração dos trofoblastos para a placentação e desenvolvimento apropriado do bebê, esses dados demonstram uma possível relação com as complicações causadas pela obesidade materna, em especial às alterações que os ácidos graxos saturados propiciam.

CONCLUSÕES:

Nossos dados sugerem que a obesidade materna é capaz de modular a via do IGF e da insulina, assim como as respostas intracelulares em placentas de animais, revelando interferências no desenvolvimento placentário e fetal. Além disso, o tratamento com palmitato e meio obesogênico foi capaz de impactar negativamente a migração e a sobrevivência de células trofoblásticas.

BIBLIOGRAFIA

VARMALOV, O. Reprogramação metabólica de células-tronco hematopoiéticas e progenitoras fetais pela obesidade materna. **Hematol Frontal**, v. 4, 2025.

GODFREY, K. M.; REYNOLDS, R. M.; PRESCOTT, S. L.; NYIRENDA, M.; JADDOE, V. W.; ERIKSSON, J. G.; BROEKMAN, B. F. Influência da obesidade materna na saúde a longo prazo da prole. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 5, n. 1, p. 53-64, 2016.

BURTON, G. J.; FOWDEN, A. L. The placenta: a multifaceted, transient organ. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, 2014.

SCHENKELAARS, N.; SCHOENMAKERS, S.; FAAS, M. M.; WILLEMSEN, S. P.; DE VOS, E. S.; STEEGERS-THEUNISSEN, R. P. The maternal body mass index and first-trimester placental (vascular) development. **Placenta**, v. 160, p. 126-134, 2025.

KELLY, A. C.; POWELL, T. L.; JANSSON, T. Placental function in maternal obesity. **Clinical Science**, v. 134, n. 8, p. 961-984, 2020.

SANCHES, A. P. V.; OLIVEIRA, J. L.; FERREIRA, M. S.; LIMA, B. S.; MIYAMOTO, J. E.; SIMINO, L. A. P.; TORSONI, M. A.; TORSONI, A. S.; MILANSKI, M.; IGNÁCIO-SOUZA, L. Obesity phenotype induced by high-fat diet leads to maternal-fetal constraint, placental inefficiency, and fetal growth restriction in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 104, 2022.

DEL MÓNACO, S.M; MARINO, G.I. ASSEF, Y.A.; DAMIANO, A.E.; KOTSIAS, B.A.; Cell migration in BeWo cells and the role of epithelial sodium channels. **J Membr Biol**. v. 232, p.1-13, 2009.

MARTÍN-ESTAL, I.; CASTORENA-TORRES, F. Gestational diabetes mellitus and energy-dense diet: what is the role of the insulin/IGF axis?. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, 2022.

OLAUSSON, H.; LÖF, M.; BRISMAR, K.; FORSUM, E.; SOHLSTRÖM, A. Maternal serum concentrations of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding protein-1 before and during pregnancy in relation to maternal body weight and composition and infant birth weight. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 6, p. 842-848, 2010.

HOWELL, K. R.; POWELL, T. L. Effects of maternal obesity on placental function and fetal development. **Reproduction**, v. 153, n. 3, p. 97-108, 2017.

SABEN, J.; ZHONG, Y.; GOMEZ-ACEVEDO, H.; THAKALI, K. M.; BORENGASSER, S. J.; ANDRES, A.; SHANKAR, K. Early growth response protein-1 mediates lipotoxicity-associated placental inflammation: role in maternal obesity. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 305, n. 1, 2013.