

AVALIAÇÃO DE MARCADORES ENVOLVIDOS NO CONTROLE HIPOTALÂMICO DO APETITE EM CAMUNDONGOS FÊMEAS QUE CONSUMIRAM DIETA CONTENDO ÓLEO DE PALMA INTERESTERIFICADO

Palavras-Chave: Gordura Interesterificada; Hipotálamo; Diabetes Mellitus Gestacional.

Autores(as):

João Pedro Portela Lindoso - FCA – UNICAMP

Paloma Brasílio Villalta (Coorientadora) - FCA - UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). Adriana Souza Torsoni (Orientadora) - FCA - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A obesidade é uma doença crônica não transmissível, resultante do desequilíbrio entre ingestão e gasto energético (WHO, 2023). Trata-se de um problema de saúde pública global associado ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (ABESO, 2023). Na gestação, o ganho de massa exacerbado está relacionado ao maior risco de desenvolvimento de Diabetes Mellitus (DM) gestacional, quadro que pode levar tanto a complicações obstétricas para a gestante, como desfechos desfavoráveis aos descendentes (KAMPMANN et al., 2015; CATALANO; SHANKAR, 2017). O consumo de dietas ricas em gordura no período perinatal pode causar alterações na expressão de neuropeptídeos envolvidos no controle da fome e saciedade (VOGT et al., 2014; LIANG et al., 2009). Desse modo, neuropeptídeos anorexigênicos, inibidores de fome, e orexigênicos, indutores da fome, podem ter seus papéis alterados no controle da fome e da saciedade.

O descontrole da ingestão alimentar, regulado por esses neuropeptídeos, pode levar à hiperfagia e ao ganho de peso (Anand BK, Brobeck JR. 1951). Neurônios AgRP (peptídeo relacionado ao agouti) e neurônios NPY (neuropeptídeo Y) possuem papéis complementares na ativação do apetite, enquanto os neuropeptídeos POMC (pró-opiomelanocortina) e CART (transcrito regulado pela cocaína e anfetamina) estão relacionados com a inibição (Anand BK, Brobeck JR. 1951). Estudos experimentais indicam que dietas ricas em gorduras, inclusive com o uso de gordura interesterificada (substituta da gordura trans) (INNIS, 2011) podem afetar o controle hipotalâmico de forma negativa, induzindo malefícios aos descendentes das mães expostas a esse tipo de alimentação (Klein et al., 2017). Neste contexto, o uso de gordura interesterificada, como substituta da gordura trans em produtos alimentícios, vem crescendo e estudos recentes mostram que seu consumo pode levar a

importantes alterações metabólicas (DESTAILLATS et al., 2005; SILVA et al., 2015; SOUZA et al., 2017). Nesse sentido, o presente estudo buscou avaliar os efeitos metabólicos do consumo de uma dieta normocalórica e normolipídica contendo óleo de palma interesterificado, em camundongos fêmeas durante a gestação e lactação.

METODOLOGIA:

Foram utilizados camundongos fêmeas (C57BL/6J) provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB/UNICAMP; Protocolo de aprovação CEUA/UNICAMP: nº 5764-1/2021). Após 5 semanas de vida, os animais foram divididos em dois grupos, de acordo com a dieta: Óleo de palma natural (Palma); e Óleo de palma interesterificado (Inter). As fêmeas foram colocadas para acasalamento na proporção 2:1 com machos da mesma idade. Após o acasalamento, as fêmeas foram alojadas individualmente e continuaram recebendo suas respectivas dietas durante toda a gestação e lactação. Na 3ª e 4ª semana pré-acasalamento, foram medidos parâmetros metabólicos por meio de calorimetria indireta. Em seguida, foi realizado teste de ingestão alimentar com estímulo intraperitoneal com leptina. Além disso, o hipotálamo e fezes obtidas diretamente do ceco foram coletadas para análises de imunofluorescência e quantificação de lipídios nas fezes, respectivamente. Os resultados foram expressos como média $\pm$ DP. Foram utilizados o teste t de Student e ANOVA one-way com nível crítico inferior a 0,05 com tamanho de amostra de 3 a 5 por grupo. Os dados foram analisados utilizando o programa GraphPad Prism, versão 9 (GraphPad Software, Inc. USA).

RESULTADOS:

Em estudos anteriores, nosso grupo demonstrou alterações no consumo e ganho de massa nas semanas 3 e 4 pré acasalamento, portanto, para melhor compreensão do comportamento alimentar nesse período, foi analisada a ingestão relativa dos animais após estímulo com leptina via intraperitoneal. A ingestão foi acompanhada após uma, duas, três, quatro e vinte e quatro horas, depois do estímulo dado, mas não foram encontradas diferenças significativas (Fig. 1).

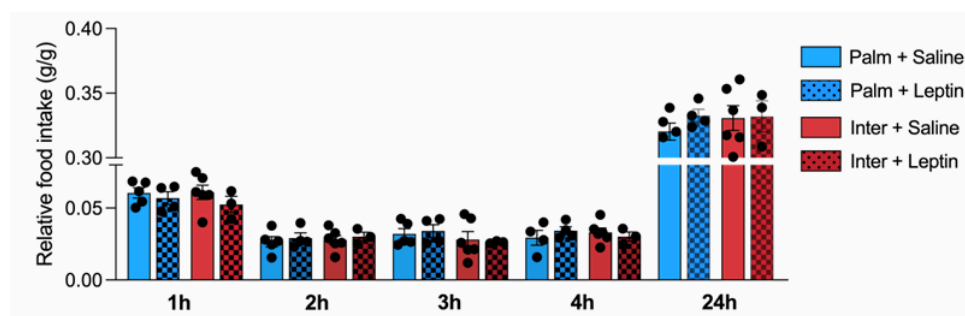


Figura 1. Ingestão alimentar relativa de animais estimulados com Leptina via intraperitoneal. Os animais mantidos sem jejum durante 24h foram estimulados com leptina (5µg/g de peso) por via intraperitoneal no início do ciclo escuro. Em seguida foram reexpostos à dieta e tiveram a ingestão alimentar acompanhada durante 1, 2, 3, 4 e 24h. A ingestão alimentar relativa foi normalizada pelo peso corporal. Dados expressos como média ±DP (n=3-6). One-way ANOVA com $p \leq 0.05$.

No mesmo sentido, também foram avaliados parâmetros metabólicos por calorimetria indireta com intuito de analisar a taxa de troca metabólica (RER), gasto energético (Heat) e atividade locomotora de ambos os grupos (Fig. 2). Os resultados mostram que o grupo que consumiu uma dieta com óleo de palma interesterificado apresentou maior RER, menor gasto energético e uma tendência de menor atividade locomotora no período claro comparado ao grupo controle, representando assim uma possível explicação para o ganho de peso e consumo das mães do grupo Inter.

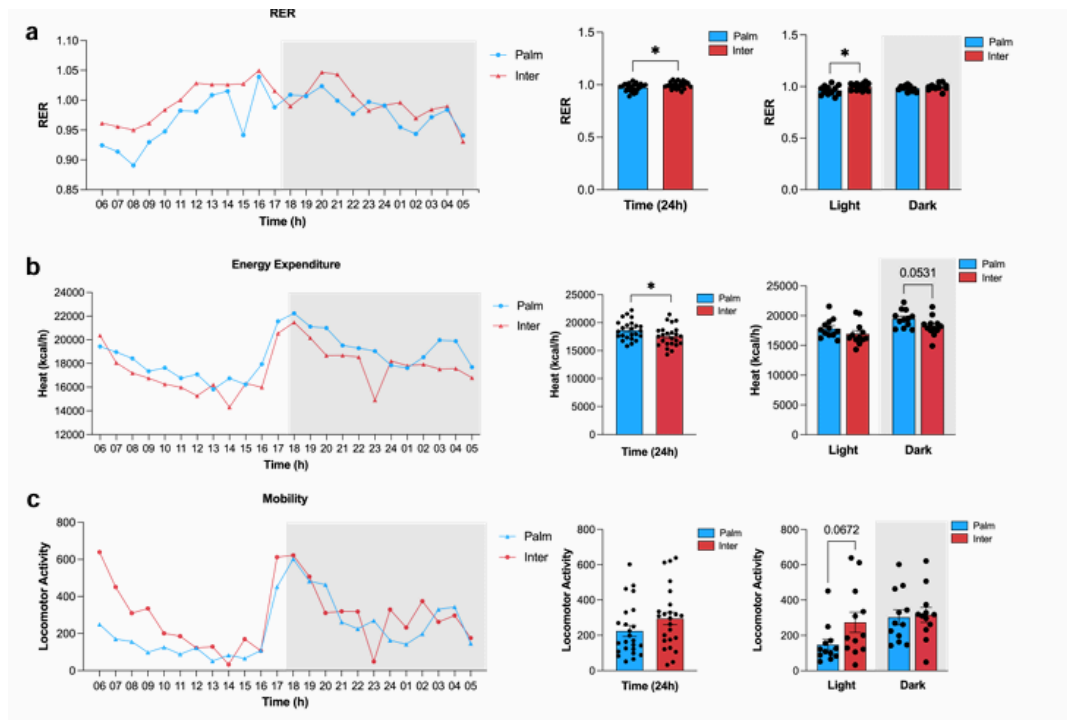
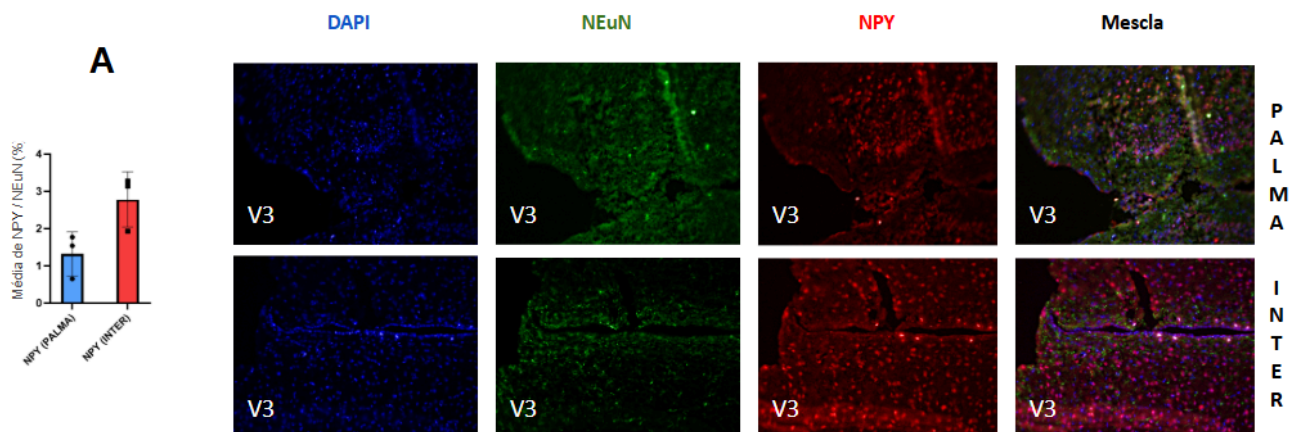


Figura 2. Avaliação de parâmetros metabólicos por calorimetria indireta. Foram mensurados taxa de troca respiratória(a), gasto calórico(b) e atividade locomotora(c) durante 24h, divididas em ciclo claro e ciclo escuro. Dados expressos como média ±DP(n=5). Teste-t de Student com $* = p \leq 0.05$

No presente estudo também foi realizada a técnica de imunofluorescência para identificar a diferença de quantidade de neurônios positivos para POMC e NPY entre os grupos controle (Palma) e Inter (Fig. 3). Em relação ao NPY, não foi observada nenhuma diferença significativa entre os grupos (Fig. 3A). Já para a marcação de POMC observa-se uma diminuição no grupo Inter quando comparado ao controle (Fig. 34B). Isso pode representar um desbalanço no controle do apetite no grupo que consumiu dieta com óleo de palma interesterificado, resultando em um potencial aumento de peso.



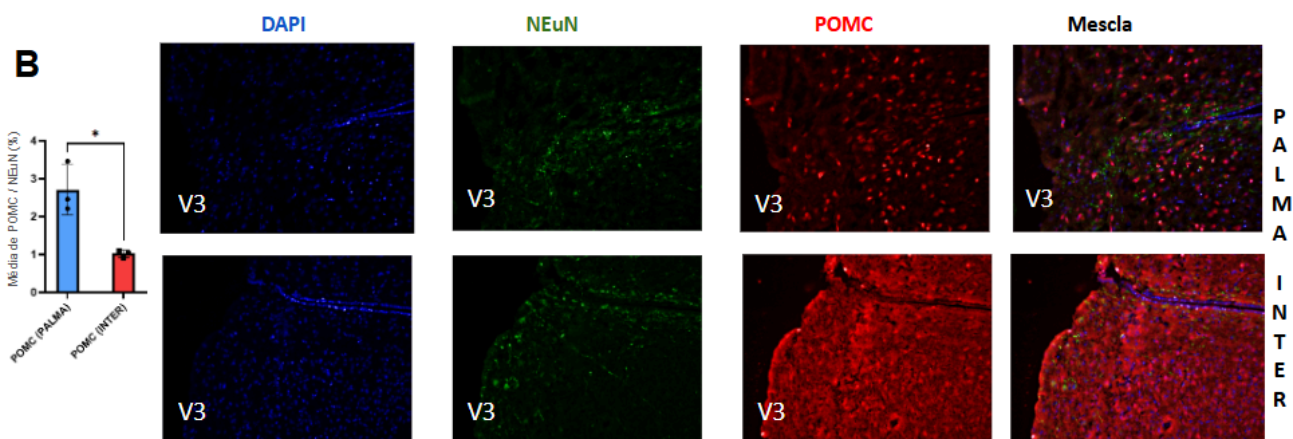


Figura 3. Imunomarcção de NPY e POMC no ARC de camundongos fêmeas. Imagens microscópicas confocais mostrando células NPY (vermelho) (A) e POMC (vermelho) (B), células NeuN (verde) e marcação nuclear com DAPI (azul), em secções coronais (15 µm) do cérebro de camundongos fêmeas. Dados expressos como média ± DP (n=3). Teste-t de Student com * = $p \leq 0.05$.

Para investigar possíveis alterações na absorção de lipídios no intestino, foi acrescentada a avaliação da quantidade de lipídios nas fezes e observou-se uma diferença significativa entre os grupos (Fig.4). Nas fezes das mães que consumiram dieta contendo óleo de palma interesterificado, a quantidade de lipídios foi superior à das mães que consumiram óleo de palma natural, demonstrando que, possivelmente, parte dos efeitos da dieta no grupo Inter podem ter sido abrandados devido à menor absorção de gordura pelas fêmeas.

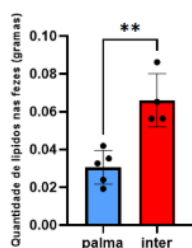


Figura 4. Quantidade de lipídios nas fezes dos camundongos fêmeas. Quantificação do conteúdo total de lipídios em amostras de fezes. Dados expressos como média ± DP (n=5). Teste-t de Student com * = $p \leq 0.05$.

CONCLUSÕES:

A partir dos resultados é possível perceber diferença importantes entre os grupos, como a quantidade de lipídios nas fezes e a quantidade de neurônios positivos para POMC, neurônio com papel crucial na regulação do apetite, do metabolismo energético e do comportamento alimentar, que podem ajudar a explicar o aumento de peso dos camundongos fêmeas que consumiram dieta contendo óleo de palma interesterificado. Apesar de não obtermos diferença no consumo alimentar com estímulo de leptina, as mães que consumiram óleo de palma interesterificado apresentam menor gasto energético, mesmo com maior atividade locomotora e taxa de troca respiratória no ciclo claro.

Esses dados ajudam a entender dados de ganho de peso e consumo previamente encontrados pelo nosso grupo.

BIBLIOGRAFIA

- Anand BK, Brobeck JR. Hypothalamic control of food intake in rats and cats. *Yale J Biol Med*. 1951;24(2):123-40;
- Areas EA, Mayer J. Anatomical connections between medial and lateral regions of the hypothalamus concerned with food intake. *Science*. 1967;157(796):1574-5;
- Lemes,S.F.; deSouza,A.C.P.; Payolla,T.B.; Versutti,M.D.; daSilvaRamalho,A.D.F.; Mendes-da-Silva,C.; Souza,C.M.; Milanski,M.; Torsoni,A.S.; Torsoni,M.A. Maternal Consumption of High-fat Diet in Mice Alters Hypothalamic Notch Pathway, NPY Cell Population and Food Intake in Offspring. *Neuroscience* 2018,371,1–15;
- van de Sande-LeeS, Pereira FRS, Cintra DE, Fernandes PT, Cardoso AR, GarlippCR, et al. Partial reversibility of hypothalamic dysfunction and changes in brain activity after body mass reduction in obese subjects. *Diabetes*. 2011;60(6):1699-704;
- physiology Department, Faculty of Medicine, MAHSA University, Malaysia. Physiology Department, Faculty Of Medicine, Minia University, Egypt. Central and Peripheral control of food intake. 2017. Hill, J.W. Gene Expression and the Control of Food Intake by Hypothalamic POMC/CART Neurons. *Open Neuroendocrinol. J*. 2010, 3, 21–27;
- Baqueiro,MayaradaNóbrega; Simino,LaisAngélicadePaula; Costa,JoãoPaulo; Panzarin,Carolina; Reginato,Andressa; Torsoni,MarcioAlberto; Ignácio-Souza,Letícia; Milanski,Marciane; Ross,MichaelG.; Coca, KellyPereira; Desai,Mina; Torsoni,AdrianaSouza. Sex-Dependent Variations in Hypothalamic Fatty Acid Profile and Neuropeptides in Offspring to Maternal Obesity and High-FatDiet. 2024. Pelling,M.; Anthwal,N.; McNay,D.; Gradwohl,G.; Leiter,A.B.; Guillemot,F.; Ang,S.L. Differential requirements for neurogenin 3 in the development of POMC and NPY neurons in the hypothalamus. *Dev.Biol.* 2011, 349,406–416.
- BERRY,S. Triacylglycerol structure and interesterification of palmitic and stearic acid-rich fats: an overview and implications for cardiovascular disease. *Nutrition Research Reviews*, v.22,p.3-17,2009.
- REENA,M.B.et al.EnhancedHypocholesterolemicEffectsof Interesterified Oils Are Mediated by Up regulating LDL Receptor and Cholesterol 7-a-Hydroxylase Gene Expression in Rats. *The Journal of Nutrition: Biochemical, Molecular, and Genetic Mechanisms*,p.24-30,2010.
- CATALANO, P. M.; SHANKAR, K. Obesity and pregnancy: mechanisms of short term and long term adverse consequences for mother and child. *BMJ*, v. 356, j1, 2017. <https://doi.org/10.1136/bmj.j1>
- DESTAILLATS, F. et al. Rationale for the replacement of partially hydrogenated fats with interesterified fats based on their fatty acid composition and biological effects. *Food and Chemical Toxicology*, v. 43, n. 7, p. 985–997, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.01.005>
- INNIS, S. M. Dietary triacylglycerol structure and its role in infant nutrition. *Advances in Nutrition*, v. 2, n. 3, p. 275–283, 2011. <https://doi.org/10.3945/an.111.000356>
- KAMPMANN, U. et al. Gestational diabetes: a clinical update. *World Journal of Diabetes*, v. 6, n. 8, p. 1065, 2015. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i8.1065>
- LIANG, G. et al. Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation impairs development of hypothalamic leptin signaling pathways and appetite regulation in rat offspring. *FASEB Journal*, v. 23, n. 10, p. 3424–3434, 2009. <https://doi.org/10.1096/fj.09-133546>
- SILVA, M. M. et al. Diets containing interesterified fats induce different effects on lipid metabolism and inflammation markers compared to native oils in Wistar rats. *Nutrition & Metabolism*, v. 12, p. 57, 2015. <https://doi.org/10.1186/s12986-015-0050-5>
- SOUZA, C. F. et al. Impact of maternal intake of interesterified fat on metabolism and hypothalamic neuropeptides in the offspring. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 49, p. 1–9, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.07.008>
- VOGT, M. C. et al. High-fat diet feeding during pregnancy and lactation leads to persistent changes in hypothalamic transcriptome and metabolism in adult offspring. *Endocrinology*, v. 155, n. 10, p. 3974–3987, 2014. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1277>
- Klein MO, MacKay H, Edwards A, Park SB, Kiss ACI, Felicio LF, Abizaid A. POMC and NPY mRNA expression during development is increased in rat offspring brain from mothers fed with a high fat diet. *Int J Dev Neurosci*. 2018 Feb;64:14-20. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2017.03.004. Epub 2017 Mar 18. PMID: 28323039.
- Villalta, Paloma Brasilio. **Efeito da dieta materna com óleo de palma interesterificado sobre a sinalização de insulina na prole jovem de camundongos**. Tese (Trabalho de Conclusão de Curso - Ciências do Esporte) - Faculdade de Ciências Aplicadas, UNICAMP, Limeira, p. 31. 2022.
- WHO. **World Health Statistics 2023**. WHO World Health Organization. 2023.
- “Até 2035, um em cada 4 adultos conviverá com a obesidade no mundo”. ABESO (Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica), 2023. Em: <https://abeso.org.br/ate-2035-um-em-cada-4-adultos-convivera-com-a-obesidade-no-mundo/#:~:text=A%20Federa%C3%A7%C3%A3o%20Mundial%20de%20Obesidade.pessoas%20tem%20obesidade%20no%20mundo>