

EFEITO DA DIETA MATERNA COM ÓLEO DE PALMA INTERESTERIFICADO SOBRE A SINALIZAÇÃO DE INSULINA NO TECIDO ADIPOSO E HIPOTÁLAMO DA PROLE JOVEM DE CAMUNDONGOS

Palavras-chave: DoHaD-1; Gordura interesterificada-2; Resistência à Insulina-3

Autoras:

Aluna: Luiza Martins Fernandez Malentachi, FCA-UNICAMP

Orientadora: Dr^a Adriana Souza Torsoni, FCA-UNICAMP

Coorientadora: Paloma Brasílio Villalta, FCA-UNICAMP

INTRODUÇÃO

Durante a gestação e lactação, o organismo do feto passa por estágios críticos de desenvolvimento, com alterações morfológicas e fisiológicas relevantes (BARKER, 1990; GLUCKMAN et al., 2008). Evidências epidemiológicas e experimentais associam exposições ambientais adversas nessas fases a alterações permanentes na expressão gênica, elevando o risco de doenças crônicas na vida adulta (BARKER, 1990; BATESON et al., 2004; SILVEIRA et al., 2007; GLUCKMAN et al., 2008). Esses achados fundamentam o conceito de “Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença” (DOHaD), que propõe uma abordagem preventiva para condições como obesidade e diabetes tipo 2 (HANSON & GLUCKMAN, 2014; SILVEIRA et al., 2007).

Entre os fatores ambientais, destaca-se o aumento do consumo de ultraprocessados e a redução da atividade física, gerando desequilíbrio energético na população (OMS, 2021). Em especial, as gorduras interesterificadas, substitutas das trans, ganham atenção por alterarem a posição dos ácidos graxos nos triacilgliceróis sem formar isômeros trans (BERRY, 2009; MAY & NESARETNAM, 2014), mas ainda assim, têm sido relacionadas à inflamação intestinal, estresse oxidativo e disfunções metabólicas, mesmo em dietas normolipídicas (MIYAMOTO et al., 2020; MENTA et al., 2022).

A insulina, hormônio central no metabolismo energético, atua em tecidos periféricos e no sistema nervoso central, regulando a captação de glicose e/ou sinalização anabólica por meio da via IR–IRS–PI3K–AKT (CZECH, 1985; SALTIEL, 2016; WHITE, 1998; PESSIN, 2000; CZECH, 1999). Falhas nesse eixo, como redução de fosforilação da AKT, estão associadas à resistência insulínica e lipólise exacerbada, contribuindo para inflamação e lipotoxicidade (DE LUCA & OLEFSKY, 2008; HOTAMISLIGIL et al., 1993). Nosso grupo já observou menor pAKT no sôleo e fígado da prole de mães que consumiram óleo de palma interesterificado nesse período (VILLALTA, 2022).

No hipotálamo, a insulina regula a saciedade por vias como PI3K/AKT e MAPK (CARVALHEIRA, 2003). Neurônios orexígenos (NPY) e anorexígenos (POMC) no núcleo arqueado (ARC) são essenciais na homeostase energética (ALVAREZ-LEITE, 2016; ZHANG, 2014) e estudos mostram que dietas ricas em gordura nas fases iniciais da vida alteram sua expressão, predispondo a um fenótipo obesogênico (BAQUEIRO, 2024).

Diante disso, este estudo avaliou a resposta à insulina no tecido adiposo perigonadal e a modulação da expressão gênica em neurônios envolvidos no controle da fome e da saciedade no hipotálamo da prole de camundongos nascidos de mães que consumiram gordura interesterificada durante fases críticas do desenvolvimento.

METODOLOGIA:

Camundongos Fêmeas (C57BL/6J) provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB/Brasil) foram alojados na proporção de dois animais por gaiola, mantidos em biotério com ciclo claro/escuro 12 horas, temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, com ração e água *ad libitum* ao longo do estudo. Com cinco semanas de vida, as fêmeas foram divididas em dois grupos experimentais, de acordo com a dieta ofertada: Óleo de Palma (P) ou Óleo de Palma Interesterificado (I). Após o período de quatro semanas, as fêmeas foram colocadas para acasalamento na proporção de 2:1 com machos da mesma idade, alimentados com dieta padrão. Após o acasalamento, as fêmeas foram alojadas individualmente e continuaram recebendo suas respectivas dietas durante toda gestação e lactação (a dieta foi elaborada com base na AIN-93G). No dia do nascimento da prole, a ninhada foi ajustada para 6 filhotes (sendo 3 fêmeas e 3 machos) por mãe. No 21º dia de vida os filhotes foram desmamados e separados em machos e fêmeas, e todos os grupos receberam dieta contendo Óleo de Palma Natural (com base na AIN-93G) até o final do experimento. Aos 30 dias de vida, os animais foram eutanasiados e tiveram o tecido adiposo perigonadal coletado para análise dos níveis de fosforilação da proteína AKT, envolvida na via de sinalização da insulina. Também foi coletado o hipotálamo, onde foram avaliados os níveis de transcritos dos neuropeptídeos orexígenos (NPY) e anorexígenos (POMC), por meio de RT-qPCR. Os resultados estão 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 E DISCUSSÃO:

A literatura aponta que a ingestão direta de gordura interesterificada eleva a expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α no fígado e tecido adiposo branco, o que prejudica a cascata de sinalização da insulina e contribui para o desenvolvimento da resistência à insulina. (Miyamoto et al., 2020). Os dados de Western Blot para AKT fosforilada (**Fig. 1 e 2**) mostram diferenças na resposta à insulina entre os sexos. Nas fêmeas, o grupo cujas mães receberam dieta Inter (óleo de palma interesterificado) apresentou redução na fosforilação de AKT após estímulo com insulina, quando comparado ao grupo cujas mães receberam dieta controle (CT Palma), sugerindo uma possível resistência à insulina no tecido adiposo epididimal. Nos machos, essa diferença não foi

observada, indicando uma resposta preservada da insulina. Esses dados indicam que a programação metabólica induzida pela dieta materna pode afetar a sinalização da insulina no tecido adiposo de forma distinta entre os sexos.

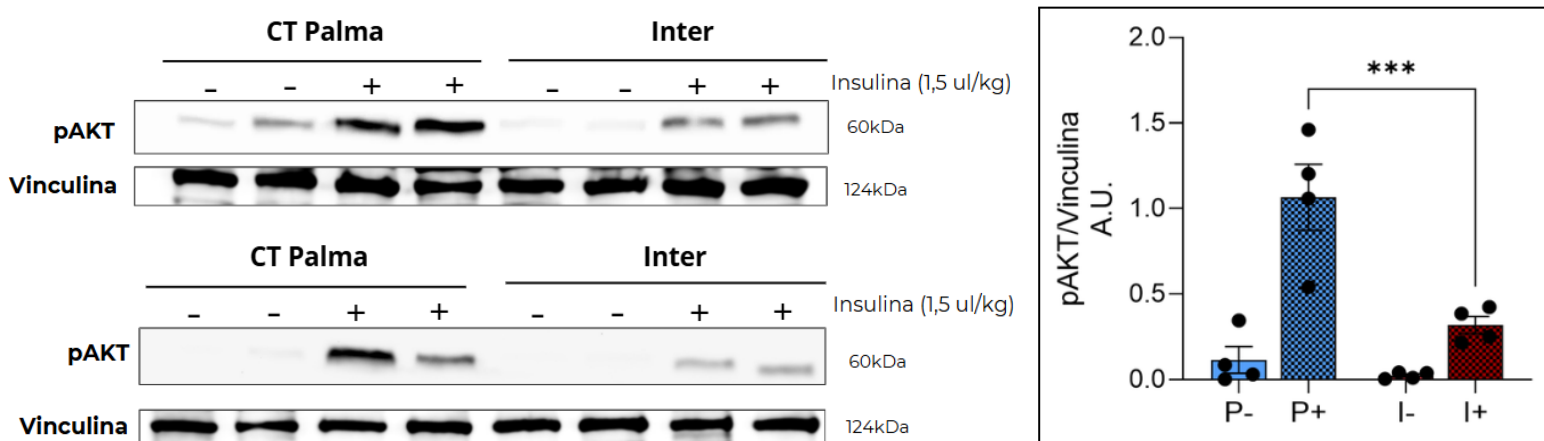


Figura 1. Western Blotting de pAKT no tecido adiposo da prole fêmea grupo CT palma e Inter. A Vinculina foi utilizada como controle endógeno. Dados expressos como média ± DP (n=4). One-way ANOVA com post-hoc de Bonferroni com * = $p \leq 0.05$.

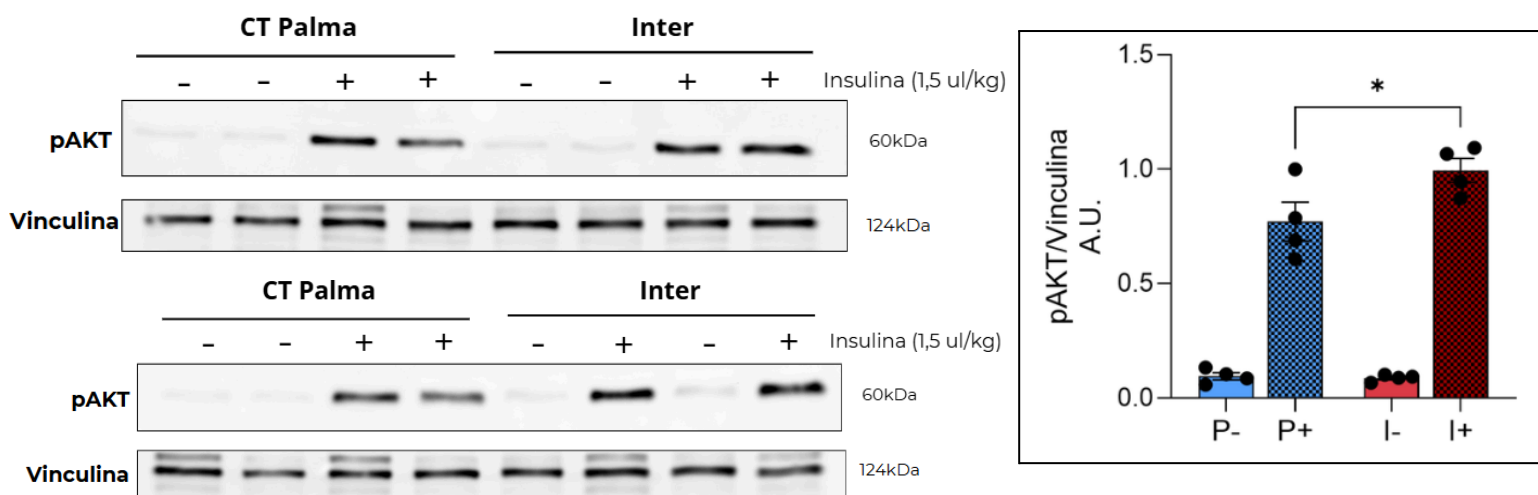


Figura 2. Western Blotting de pAKT no tecido adiposo da prole macho grupo CT palma e Inter. A Vinculina foi utilizada como controle endógeno. Dados expressos como média ± DP (n=4). One-way ANOVA com post-hoc de Bonferroni com * = $p \leq 0.05$.

A literatura mostra que a exposição a dietas hiperlipídicas durante a gestação e lactação reduz a expressão de Pomc no hipotálamo da prole, contribuindo para a ativação de vias orexigênicas e a desregulação do balanço energético (Nguyen et al., 2017). Contrariamente a esses achados, observamos em nosso estudo um aumento na expressão de Pomc no hipotálamo da prole fêmea (**Fig. 3**). Já na prole macho (**Fig. 4**), observamos uma desregulação do controle central da fome, com alteração na expressão de ambos os neuropeptídeos (Npy e Pomc) no hipotálamo. Esses resultados podem indicar uma resposta adaptativa ou um possível efeito protetor materno por causa da exposição

a uma dieta com óleo de palma interesterificado. Essa divergência em relação à literatura pode estar associada ao nosso modelo experimental, o qual utilizou uma dieta normocalórica, bem como ao tamanho amostral reduzido, que deve ser considerado como uma limitação do estudo.

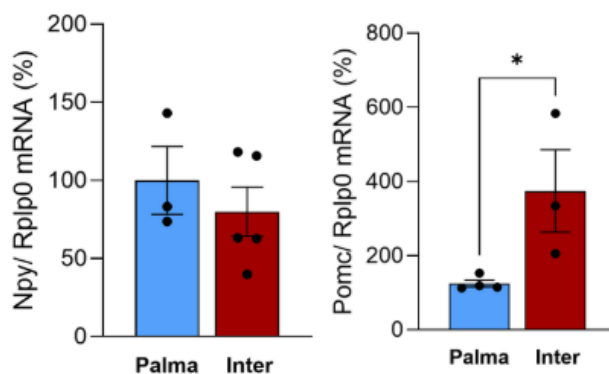


Figura 3. Níveis de transcritos de neuropeptídeos orexígenos e anorexígenos hipotalâmicos da prole fêmea. Dados expressos como média \pm DP (n=5). Teste-t de Student com * = $p \leq 0.05$.

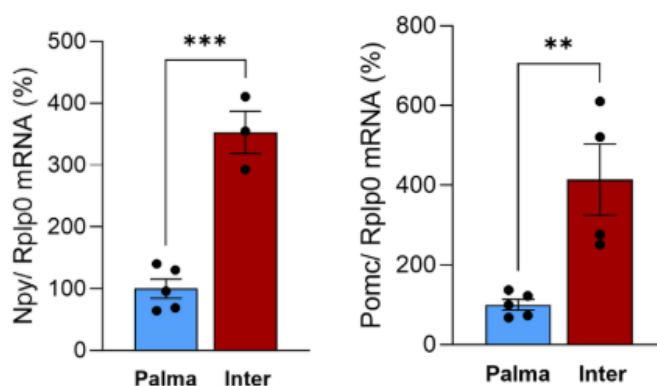


Figura 4. Níveis de transcritos de neuropeptídeos orexígenos e anorexígenos hipotalâmicos da prole macho. Dados expressos como média \pm DP (n=5). Teste-t de Student com * = $p \leq 0.05$.

CONCLUSÃO

A exposição materna ao óleo de palma interesterificado durante os períodos críticos do desenvolvimento alterou a sinalização de insulina no tecido adiposo e a expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos na prole jovem de camundongos. No tecido adiposo, houve redução da fosforilação de AKT na prole fêmea e aumento na prole machos, indicando que a dieta afetou de forma distinta a resposta à insulina entre os sexos. No hipotálamo, foram identificadas alterações na expressão de NPY e Pomc, com aumento de Pomc na prole fêmea, e ambos os neuropeptídeos na prole macho, sugerindo desregulação do controle central da fome. Esses resultados mostram que o consumo materno de gordura interesterificada, mesmo em dieta normocalórica, pode impactar a programação metabólica periférica e central da prole. Entretanto, análises suplementares são necessárias para melhor compreensão, principalmente, dos resultados relativos à expressão gênica dos neuropeptídeos.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ-LEITE, Jacqueline Isaura et al. Controle Neuroendócrino da Saciedade. In: **Sistema Digestório: Integração Básico-Clinica**. Blucher Open Access, p. 389-410, 2016.
- BAQUEIRO, Mayara da Nóbrega et al. Sex-Dependent Variations in Hypothalamic Fatty Acid Profile and Neuropeptides in Offspring Exposed to Maternal Obesity and High-Fat Diet. **Nutrients**, v. 16, n. 3, p. 340, 2024.
- BARKER, D. The fetal and infant origins of adult disease: The womb may be more important than the home. **British Medical Journal**, v. 301, p. 1111, 1990.
- BATESON, P. et al. Developmental plasticity and human health. **Nature**, v. 430, p. 419–421, 2004. FERRARI, Elenice A. et al. Plasticidade neural: relações com o comportamento e abordagens experimentais. **Psicologia: teoria e pesquisa**, v. 17, p. 187-194, 2001.
- 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.
- CARVALHEIRA, José Barreto Campello et al. Selective impairment of insulin signalling in the hypothalamus of obese Zucker rats. **Diabetologia**, v. 46, p. 1629-1640, 2003.
- CZECH, M. P. The nature and regulation of the insulin receptor: structure and function. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v. 47, p. 357–381, 1985.
- CZECH, M. P. Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. **Molecular Metabolism**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 3–11, 1999.
- DE LUCA C, OLEFSKY JM. Inflammation and insulin resistance. **FEBS Lett.**, v. 582, n. 1, p.97-105, 2008.
- GLUCKMAN, P. D. et al. Effect of In Utero and Early-Life Conditions on Adult Health and Disease. **N Engl J Med**, v. 359, p. 61–73, Jul. 2008.
- HANSON, M. A.; GLUCKMAN, P. D. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology? **Physiol Rev**, v. 94, n. 4, p. 1027-1076, 2014.
- HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, v. 259, n. 5091, p. 87–91, 1993.
- MAY CY, NESARETNAM K. Research advancements in palm oil nutrition. **Eur J Lipid Sci Technol**. v. 116, n. 10, p. 1301-1315, 2014.
- MENTA, P.L.R. et al. Interesterified palm oil increases intestinal permeability, promotes bacterial translocation, alters inflammatory parameters and tight-junction protein gene expression in Swiss mice. **Food Research International**, v. 151, p. 110897, 2022.
- MIYAMOTO, J. et al. Interesterified palm oil impairs glucose homeostasis and induces deleterious effects in liver of Swiss mice. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 112, 2020
- NGUYEN, L. T., Saad, S., Tan, Y., Pollock, C., & Chen, H. (2017). Maternal high-fat diet induces metabolic stress response disorders in offspring hypothalamus. **Journal of Molecular Endocrinology**, 59(1), 81-92.
- SILVEIRA, P.P. et al. Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD). **Jornal de Pediatria**, v. 83, p. 494-504, 2007.
- PESSIN, JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J Clin Invest**, 106(2)165-9, 2000.
- VILLALTA, P. B. 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.
- WHITE, MF. The IRS-signalling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. **Molecular Cell Biochemistry**, 182:3-11. 1998.
- ZHANG, Wei; CLINE, Mark A.; GILBERT, Elizabeth R. Hypothalamus-adipose tissue crosstalk: neuropeptide Y and the regulation of energy metabolism. **Nutrition & metabolism**, v. 11, p. 1-12, 2014