

## EFEITOS DAS DIETAS REGIONAL BÁSICA E HIPERLIPIDÊMICA NA INFLAMAÇÃO DO HIPOCAMPO EM CAMUNDONGOS C57BL6J

**Larissa Lara de Sousa Avelino**

**Lailton Oliveira da Silva**

**Juçara da Cruz Araújo**

**Yatagan Moreira da Rocha**

**Cristhyane Costa de Aquino**

Centro Universitário Fametro - Unifametro

laraclara\_avelino@hotmail.com

**Título da Sessão Temática:** Alimentos, nutrição e saúde

**Evento:** VII Encontro de Monitoria e Iniciação Científica

### RESUMO

A obesidade é definida como uma síndrome, mais de 50% da população está acima do peso, isso vem corroborando para uma população com outras doenças, como doenças cardiovasculares, diabetes e hipertensão. Nos estudos atuais, a literatura tem abordado sobre as Dietas Hiperlipídicas e os seus efeitos na fisiologia do corpo humano. As Citocinas podem ser reconhecidas em diferentes classificações, de acordo com sua atividade pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) e anti-inflamatórias (IL-1 $\beta$ ). O presente trabalho tem como objetivo investigar o efeito de citocinas pró-inflamatórias em camundongos C57BL6J após exposição por dietas pobres em proteínas e ricas em lipídios. Foram utilizados camundongos C57BL/6J, no experimento completo foram utilizados 46 animais. Camundongos recém-nascidos amamentados foram selecionados aleatoriamente para três grupos experimentais, com mães recebendo dieta regional básica (DRB) ou dieta hiperlipídica (DH). Os controles receberam a dieta padrão (CTL). No dia 21, os filhotes foram desmamados e continuaram com a dieta inicial até os 52 dias de idade. A partir da análise dos resultados dos grupos estudados é possível observar uma expressão significativa das citocinas (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-10) presentes no hipocampo dos animais. Pelo TNF- $\alpha$  ser uma das principais citocinas presentes na inflamação os resultados corroboram que as referentes dietas refletem em um estado inflamatório. O presente estudo mostrou experimentalmente a relação entre Dietas Hiperlipídicas e ricas em carboidratos com a resposta inflamatória a partir da produção de citocinas presentes no hipocampo de camundongos. Constatando que essas dietas produzem um estado inflamatório, podendo acarretar em prejuízos fisiológicos em longo prazo.

**Palavras-chave:** Dieta Hiperlipídica. Inflamação. Hipocampo.

### INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como uma síndrome, devido ao acúmulo de tecido adiposo no corpo humano, no entanto, é um tecido metabolicamente ativo produtor de enzimas que causam resistência ao funcionamento da insulina, elevação da pressão arterial, aumento do depósito de colesterol nos vasos sanguíneos e outras ações que elevam a morbidade do paciente obeso. Logo, em relação com a obesidade, as alterações fisiopatológicas podem acometer em outras complicações em vários órgãos e sistemas, como coração, fígado e rins, e influenciar no desenvolvimento de outras patologias, como diabetes Diabetes Mellitus 2, Hipertensão e dentre outras. Diferentes estudos têm procurado identificar os principais fatores responsáveis pelo desenvolvimento desta desordem, tais estudos citam a relação de uma dieta hiperlipídica, uma vez que esse modelo reflete de forma mais similar às alterações metabólicas encontradas na obesidade (CAMPANELLA et al., 2014; IBGE; PESQUISA NACIONAL DE SAÚDE, 2013).

Nos estudos atuais, a literatura tem abordado sobre as Dietas Hiperlipídicas e os seus efeitos sistêmicos que afetam de forma positiva ou negativa a fisiologia do corpo humano. Concomitante, o tratamento dietético vai depender a partir de pequenas alterações na composição da dieta, seja na quantidade e os tipos de macro ou micronutrientes adicionados, de acordo com o tratamento de interesse, sendo os principais componentes energéticos das rações utilizadas em estudos experimentais com animais a composição com lipídeos e carboidratos, de tal forma, que a constituição destas rações leva a inferir que as possíveis alterações fisiopatológicas obtidas nos ratos são oriundas da alteração da quantidade de gordura da ração (VILEIGAS, 2015).

A Dieta Básica Regional (DBR) constitui a base da alimentação diária da população desfavorecida da Zona da Mata de Pernambuco. A DBR corresponde a uma dieta multideficiente, pois contém cerca de 8% de proteínas dos quais a maior proporção é de origem vegetal e 1% de lipídios. Os ingredientes da dieta (g/g%) são farinha de mandioca (64,81), feijão mulatinho (18,34), batata-doce (12,76) e carne seca (3,74) que foram cozidos, desidratados à 60°C e moídos. A DBR tem sido considerada um modelo adequado para estudar os efeitos da desnutrição materna e na prole.

Desta maneira, diversos modelos experimentais têm sido propostos para o estudo da resposta inflamatória sobre exposição por dieta hiperlipídica, logo, a presente composição de nutrientes em excesso (carboidratos e lipídeos) no organismo tende a ser armazenado no tecido adiposo, formando novas células adiposas. Corroborando o fato de que o tecido adiposo além de possuir capacidade de regulação do armazenamento e da distribuição de

gordura, dispõe de comunicação com o sistema nervoso central e o trato gastrointestinal, desempenhando importante papel na resposta inflamatória em condições tanto endócrinas quanto parácrinas ou autócrinas. (SPERETTA; LEITE; DUARTE, 2014)

As Citocinas podem ser reconhecidas em diferentes categorias e classificações, de acordo com sua atividade de pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) é uma citocina pró-inflamatória que pode ser encontrada presente quando há hipertrofia do tecido adiposo, aumentando assim sua expressão, age de forma sinérgica, quando em conjunto com Interleucina 1-beta (IL-1 $\beta$ ). TNF-alfa e IL-1 $\beta$  são produzidos a partir de macrófagos M1. Como citocina anti-inflamatória temos a Interleucina 10 (IL-10) que é produzida por macrófagos M2, entre as suas funções, produzir efeitos inibidores nas células T e natural killer, possui também importante papel na ação anti-inflamatória no sistema nervoso central (SPERETTA; LEITE; DUARTE, 2014).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo investigar o efeito de citocinas pró-inflamatórias em camundongos C57BL/6J após exposição por dietas pobres em proteínas e ricas em lipídios.

## METODOLOGIA

Foram utilizados camundongos C57BL/6J, que foram aclimatados no biotério da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, com livre acesso a água e comida. O Comitê de Ética do biotério da Faculdade de Medicina da UFC aprovou todos os protocolos experimentais. (Protocolo 2-2016).

Os camundongos foram acondicionados em gaiolas com no máximo 5 animais por gaiola com acesso livre a água e ração livre após o desmame. Para o experimento completo foram utilizados 46 animais. As carcaças após o descarte foram colocadas em freezer adequado e levadas ao incinerador. Para avaliar o ganho de peso, os camundongos foram pesados 3 vezes por semana, sempre no mesmo horário com o objetivo de mensurar as variações de peso que os grupos experimentais apresentavam de acordo com o protocolo adotado.

- **Delineamento Experimental**

Camundongos recém-nascidos amamentados foram selecionados aleatoriamente para três grupos experimentais, com mães recebendo dieta regional básica (DRB) ou dieta hiperlipídica (DH), começando 10 dias após o parto. Os controles receberam a dieta padrão (CTL). No dia 21, os filhotes foram desmamados e continuaram com a dieta inicial até os 52 dias de idade.

- **Dietas**

A DRB é moderadamente deficiente em proteínas e gorduras (82% de carboidratos, 6% de proteína, 2% de gordura), enquanto a DH é rica em lipídios (21% de carboidratos, 18% de proteínas, 60% de gordura).

- **Estatística**

Os dados representam a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), um mínimo de 6 animais por grupo. A análise estatística de ganho de peso e análise de Sholl foi realizada utilizando ANOVA de duas vias seguido pelo pós-teste de comparações múltiplas de Dunnett. Em relação às demais abordagens experimentais, a análise estatística foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do pós-teste de Dunn para comparações múltiplas. Todas as demandas estatísticas foram calculadas usando o GraphPad Prism 6.0. O nível de significância foi  $p < 0,05$ .

- **Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)**

Amostras de sangue foram retiradas por punção cardíaca em tubos BD Vacutainer SST (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, EUA). O soro foi separado por centrifugação a  $1.100 \times g$  por 15 min e armazenado a  $-80^\circ\text{C}$  até a análise. Os níveis liberados de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-10 dos três grupos de animais foram quantificados usando um kit ELISA Ready-SET-Go (eBioscience, San Diego, CA, Estados Unidos), conforme especificado no “datasheet” do fabricante. Os resultados foram expressos em pg/mL.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise dos resultados apresentados em gráficos (FIGURA 1, 2 e 3) dos grupos estudados, é possível observar uma expressão significativa das citocinas (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-10) presentes no hipocampo dos animais. Baseado na investigação dos níveis séricos de TNF- $\alpha$ , o grupo controle obteve uma expressão relativamente nula comparados aos grupos que receberam a Dieta Regional Básica (DRB) ou Dieta Hiperlipídica (DH).

O grupo que recebeu a dieta hiperlipídica obtiveram níveis de TNF- $\alpha$  expressivamente mais altos do que o grupo controle, como também, o grupo administrado com a dieta regional básica que alcançou os maiores níveis séricos dentre as dietas comparadas. Pelo TNF- $\alpha$  ser uma das principais citocinas presentes na inflamação os resultados corroboram que as referentes dietas com maior quantidade de gorduras e carboidratos refletem em um estado inflamatório.

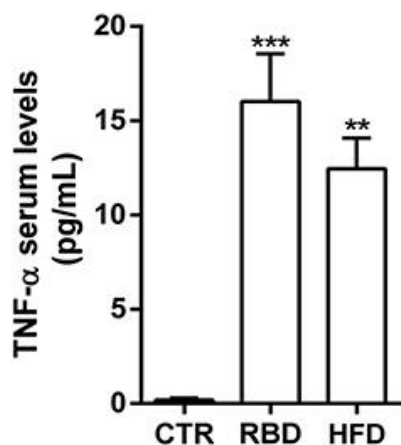


FIGURA 1: Gráfico representativo dos níveis séricos de TNF- $\alpha$  (pg/mL) dos grupos Controle (CTR), Dieta regional básica (RBD) e Dieta Hiperlipídica (HFD)

No modelo de análise da expressão de IL-1 $\beta$  é possível observar resultados diferentes dos encontrados na avaliação de TNF- $\alpha$ . No qual o grupo controle apresenta nível sérico de IL-1 $\beta$  considerável. Já os grupos a DRB e DH evidenciaram novamente uma maior taxa de níveis da citocina, no qual, o grupo da Dieta Hiperlipídica exprimiou um valor de nível sérico acima de 10pg/mL sendo o maior nível dentre os outros demonstrados.

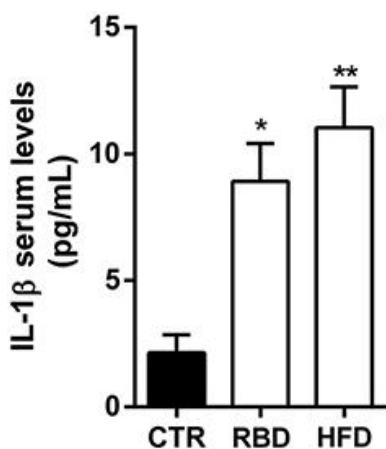


FIGURA 2: Gráfico representativo dos níveis séricos de IL-1  $\beta$  (pg/mL) dos grupos Controle (CTR), Dieta regional básica (RBD) e Dieta Hiperlipídica (HFD)

Diferentemente dos resultados encontrados das análises das citocinas anteriores, a Interleucina 10 por ser uma citocina anti-inflamatória foi identificado maiores níveis séricos no grupo controle apresentando valores acima de 10pg/mL, sendo assim, o maior nível manifestado do que comparado aos grupos de animais que receberam DRB e DH, apesar disso, os outros grupos administrados com as Dietas Hiperlipídicas e regional básica expressaram níveis parecidos e significativamente elevados.

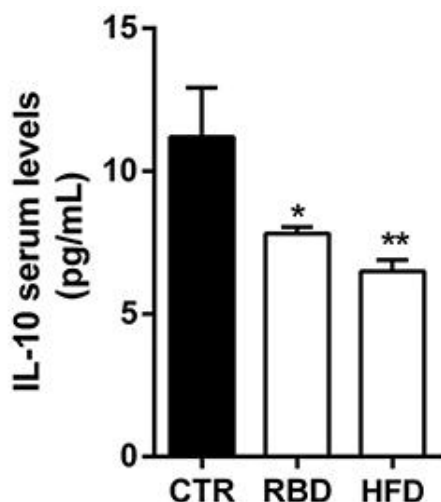


FIGURA 3: Gráfico representativo dos níveis séricos de IL-10 (pg/mL) dos grupos Controle (CTR), Dieta regional básica (RBD) e Dieta Hiperlipídica (HFD)

Assim como, em outro estudo com modelo de animais com obesidade induzida por dieta demonstrou que o consumo de Dietas Hiperlipídicas por 16 semanas levou no hipotálamo dos animais estudados um aumento considerável na expressão das citocinas inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-1, contudo, não demonstrou influência na citocina anti-inflamatória IL-10 (MILANSKI et al., 2009). Animais divididos em dois grupos, um controle recebendo a dieta normal e outro a dieta hiperlipídica induzidos à obesidade por 12 semanas, submetidos a um processo de isquemia mostrou que os animais após isquemia tiveram os níveis de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  aumentados 148% e 154%, respectivamente, comparados aos do grupo que receberam dieta normal (SONG et al., 2018). Outros estudos com modelos de ratos Wistar alimentados com Dietas Hiperlipídicas apresentaram concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$  expressivamente aumentadas em relação aos seus grupos controles (GRESSLER, 2013. PANVELOSKI-COSTA, 2011).

GUO et al. (2017) experimentou grupos de camundongos C57BL /6 com uma Dieta Hiperlipídica (60% kcal de gordura ) e outro um grupo controle com dieta baixa em gordura (10% de kcal de gordura ), apontando que em testes na camada epitelial intestinal o grupo com dieta hiperlipídica teve um aumento significativo na expressão de TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6 quando comparados ao grupo controle alimentos com dieta baixa em gordura por 8 semanas, concluindo que a dieta hiperlipídica induz a um estado inflamatório no intestino.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo de alimentos ricos em quantidades de lipídeos é predominante na população, observa-se cada vez mais a prevalência de perturbações e enfermidades

consequentes da ingesta excessiva presente na dieta. Com isso, o presente estudo mostrou experimentalmente a relação entre Dietas Hiperlipídicas e ricas em carboidratos com a resposta inflamatória a partir da produção de citocinas presentes no hipocampo de camundongos. Constatando que dietas ricas em gorduras produzem um estado inflamatório, podendo acarretar em prejuízos fisiológicos em longo prazo.

## REFERÊNCIAS

- CAMPANELLA, Luciane Coutinho de Azevedo et al. Efeito da suplementação de óleo de cártamo sobre o peso corporal, perfil lipídico, glicídico e antioxidante de ratos wistar induzidos a obesidade. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 1, p. 141-147, 2014.
- SPERETTA, G. F.; LEITE, R. D.; DUARTE, A.C. D.O. Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, n. 1, 2014.
- GRESSLER, Camila Costa et al. EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADA COM ÓLEOS VEGETAIS NOS PARÂMETROS METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS EM RATOS WISTAR [dissertação]. Santa Maria: **Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, 2013.
- GUO, Xiulan et al. High fat diet alters gut microbiota and the expression of paneth cell-antimicrobial peptides preceding changes of circulating inflammatory cytokines. **Mediators of inflammation**, v. 2017, 2017.
- MILANSKI, Marciane et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. **Journal of Neuroscience**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 359-370, 2009.
- OISHI, Jorge Camargo et al. Endothelial Dysfunction and Inflammation Precedes Elevations in Blood Pressure Induced by a High-Fat Diet. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, São Paulo, v. 110, n. 6, p. 558-567, 2018.
- PANVELOSKI-COSTA, Ana Carolina et al. Treinamento resistido reduz inflamação em músculo esquelético e melhora a sensibilidade à insulina periférica em ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, p. 155-163, 2011.
- SONG, M., AHN, J.H., KIM, H., KIM, D.W., LEE, T.-K., LEE, J.-C., KIM, Y.M., LEE, C.-H., HWANG, I.K., YAN, B.C., WON, M.-H., PARK, J.H., Chronic high-fat diet-induced obesity in gerbils increases pro-inflammatory cytokines and mTOR activation, and elicits neuronal death in the striatum following brief transient ischemia, **Neurochemistry International**, v. 121, p. 75-85, 2018.
- VILEIGAS, Danielle Fernandes. Influência da obesidade induzida por dieta hiperlipídica saturada sobre o comportamento da via beta-adrenérgica miocárdica em ratos Wistar. 2015. 61 f. Dissertação (mestrado) - **Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho**, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2015.