

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 Fаметro - 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- α e IL-1 β) e anti-inflamatórias (IL-1 β). 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 β , TNF- α e IL-10) presentes no hipocampo dos animais. Pelo TNF- α 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- α) 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 β). TNF-alfa e IL-1 β 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°C até a análise. Os níveis liberados de IL-1 β , TNF- α 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 β , TNF- α e IL-10) presentes no hipocampo dos animais. Baseado na investigação dos níveis séricos de TNF- α , 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- α 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- α 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.

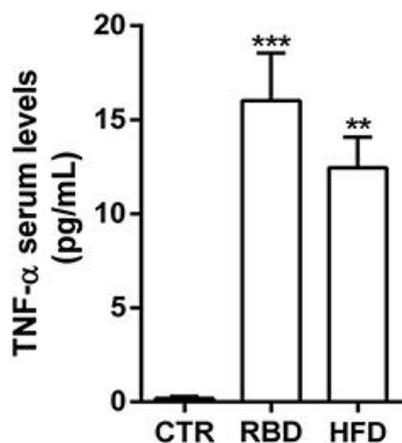


FIGURA 1: Gráfico representativo dos níveis séricos de TNF- α (pg/mL) dos grupos Controle (CTR), Dieta regional básica (RBD) e Dieta Hiperlipídica (HFD)

No modelo de análise da expressão de IL-1 β é possível observar resultados diferentes dos encontrados na avaliação de TNF- α . No qual o grupo controle apresenta nível sérico de IL-1 β 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.

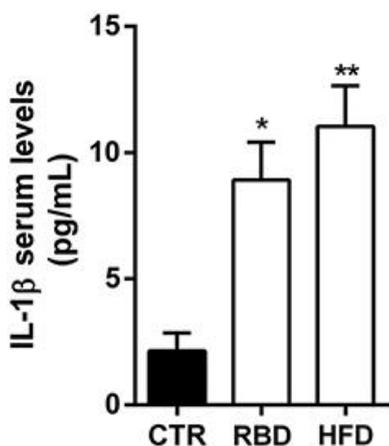


FIGURA 2: Gráfico representativo dos níveis séricos de IL-1 β (pg/mL) dos grupos Controle (CTR), Dieta regional básica (RBD) e Dieta Hiperlipídica (HFD)

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.

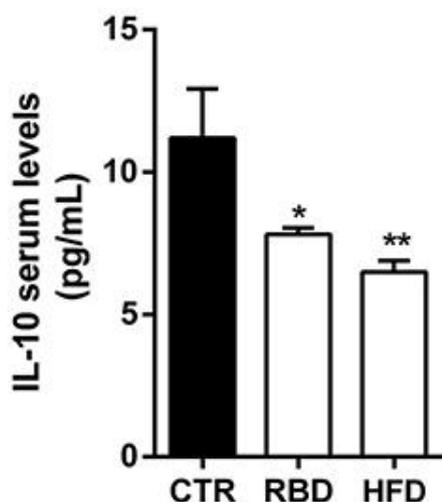


FIGURA 3: Gráfico representativo dos níveis séricos de IL-10 (pg/mL) dos grupos Controle (CTR), Dieta regional básica (RBD) e Dieta Hiperlipídica (HFD)

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- α 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 β e TNF- α 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- α 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- α , 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.