

## **OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA DE CAFETERIA EM CAMUNDONGAS ALTERA A ATIVIDADE DA GLUTATIONA PEROXIDASE E O NÍVEL DE LIPOPEROXIDAÇÃO NO TECIDO ADIPOSEO**

Mariana Amâncio Daniel da Silva, Juliana Morais Mewes, Rodrigo Polimeni Constantin, Karina Sayuri Utsunomiya, Jorgete Constantin, Emy Luiza Ishii-Iwamoto, Eduardo Hideo Gilglioni (Orientador),  
e-mail: ehgilglioni2@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

**Ciências Biológicas. Sub-área: Bioquímica, Metabolismo e Bioenergética**

**Palavras-chave:** obesidade, estresse oxidativo, adiposidade.

### **Resumo**

A obesidade é uma condição que predispõe estruturas celulares em diversos tecidos ao dano oxidativo. A enzima glutatona peroxidase (GPx) é parte importante do sistema antioxidante celular. Nesse trabalho, camundongas fêmeas foram tratadas com dieta de cafeteria para acompanhar o ganho de peso, a adiposidade corporal e determinar os efeitos da dieta sobre parâmetros do estado redox do tecido adiposo gonadal. Os resultados mostraram que houve maior ganho de peso (+45.12%) e maior índice de adiposidade corporal (+73.76%) nas camundongas tratadas com dieta de cafeteria em comparação com as camundongas tratadas com dieta padrão. A dieta de cafeteria induziu aumento da atividade da enzima GPx (+57.77%). Apesar disso, observou-se aumento na peroxidação lipídica, como indicado pelos níveis elevados (+25.35%) de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Estes dados apontam que a atividade da enzima GPx no tecido adiposo gonadal é afetada pela obesidade, sugerindo seu envolvimento no mecanismo compensatório antioxidante no tecido adiposo gonadal em resposta à obesidade induzida por dieta de cafeteria, condição que parece favorecer o dano oxidativo de lipídios celulares.

### **Introdução**

Pesquisas que utilizam modelos de obesidade exógena vêm crescendo em resposta aos preocupantes dados epidemiológicos de sobrepeso e obesidade em todo o globo. Essas pesquisas têm demonstrado que a obesidade provoca alterações no tecido adiposo que vão além do aumento de sua massa. A hipertrofia dos adipócitos é associada com inflamação, hipóxia, estresse oxidativo e outras complicações. O estresse oxidativo ocorre quando há um desbalanço entre

a geração de espécies reativas e a capacidade antioxidante celular. Mudanças na expressão e na atividade de diversas enzimas ocorrem como parte de mecanismos de adaptação dos adipócitos às injúrias associadas à obesidade. Avanços recentes na descrição do desenvolvimento de alterações em resposta a obesidade induzida por dieta de cafeteria mostram que existe um importante dimorfismo sexual, sendo as camundongas fêmeas mais susceptíveis a complicações como a esteatose hepática (Gasparin et al., 2018). Nesse contexto, o presente trabalho se propôs a avaliar um parâmetro enzimático da capacidade antioxidante e um parâmetro indicador de dano oxidativo no tecido adiposo gonadal, um dos maiores depósitos adiposos em roedores, localizado ao redor dos ovários, cujo aumento da massa em camundongas alimentadas com dieta de cafeteria é notável. A atividade da enzima glutathione peroxidase (Gpx) foi medida considerando seu papel importante no sistema antioxidante celular na eliminação do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Como parâmetro indicativo de dano oxidativo a lipídeos celulares foi medido o nível de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no mesmo tecido adiposo.

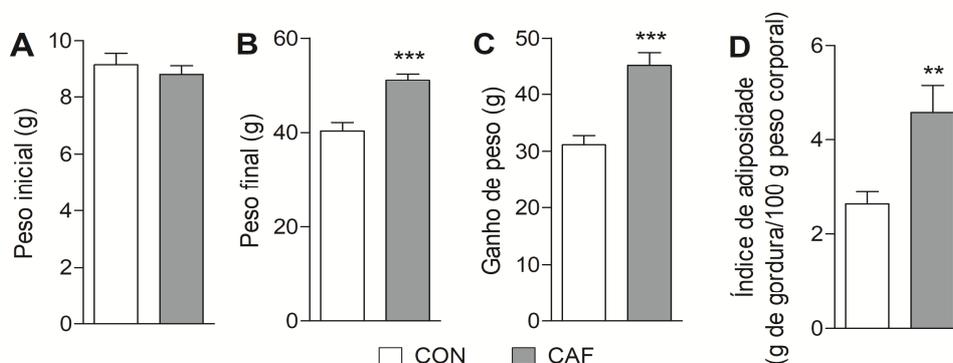
## Materiais e métodos

Camundongas Swiss fêmeas de 21 dias foram divididas em dois grupos experimentais: controle (CON) e cafeteria (CAF). Durante 14 semanas, as camundongas foram alimentadas *ad libitum* com dieta padrão (controle) ou dieta de cafeteria, que consistiu em: bolachas recheadas, chips, paçoca, salsicha, mortadela, marshmallow e refrigerante. Foi determinado o peso corporal, ganho de peso e índice de adiposidade, sendo o último determinado a partir da coleta e pesagem dos tecidos adiposos gonadal, inguinal e marrom. O índice de adiposidade foi definido como a soma dos depósitos de gordura em relação a 100 gramas de peso corporal. A atividade da GPx foi determinada espectrofotometricamente, acompanhando-se a velocidade de redução do NADPH (Paglia & Valentine, 1967). O nível de peroxidação lipídica foi também medido espectrofotometricamente utilizando-se o método de Ohkawa et al. (1979), pelo teste de TBARS. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão, após análise pelo teste t-student, adotando-se como critério de significância  $p < 0,05$ .

## Resultados e Discussão

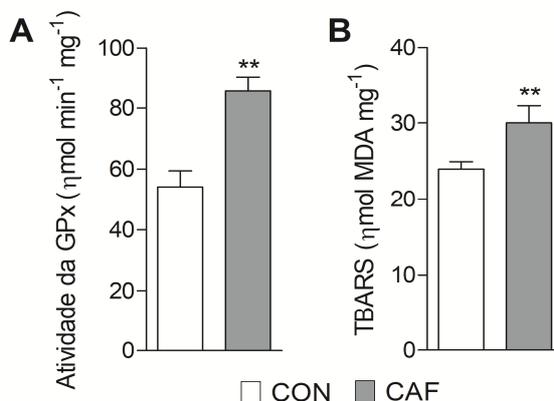
Na figura 1 estão apresentados os resultados referentes aos parâmetros antropométricos. Apesar de não haver diferenças entre o peso inicial dos animais designados para os grupos CON e CAF (Fig. 1A), o peso final foi maior nos animais alimentados com a dieta de cafeteria. Os valores do peso final no grupo CAF foram 26.72% maiores que no grupo CON (Fig. 1B). Consequentemente, ao se calcular o ganho de peso, encontrou-se que os valores foram 45.12% maiores no CAF em comparação ao CON (Fig. 1C). O índice de adiposidade foi alterado pela dieta de cafeteria, de modo

que o grupo CAF apresentou índice de adiposidade 73.76% superior em relação ao grupo CON (Fig. 1D), mostrando que a dieta de cafeteria levou ao aumento no peso dos depósitos de tecido adiposo que foram medidos.



**Figura 1** – Parâmetros antropométricos dos animais controle (CON) e cafeteria (CAF). O peso inicial foi medido no início do tratamento e o peso final foi medido após 14 semanas de tratamento com dieta padrão ou dieta de cafeteria. O ganho de peso é a diferença entre o peso inicial e o peso final. O índice de adiposidade foi medido no final do tratamento com base nos tecidos adiposos gonadal, inguinal e marrom. As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. Asteriscos representam significância estatística de acordo com o teste t-student: \*\*  $p < 0.01$  e \*\*\*  $p < 0.001$ . (n=6-9).

A Figura 2 apresenta os resultados da medida da atividade da GPx (Fig. 2A) e dos níveis de TBARS (Fig. 2B). A atividade da GPx foi maior nos animais do grupo CAF, no qual os valores foram 57,77% maior em relação ao grupo CON. A GPx é responsável por neutralizar o  $H_2O_2$  que eventualmente produzido durante o metabolismo. Nesse sentido, uma interpretação plausível para o achado de que a GPx está aumentada nos animais obesos é de que, como consequência da dieta de cafeteria, a geração de espécies reativas como o  $H_2O_2$  é acelerada, e a GPx tem sua atividade positivamente regulada na tentativa de controlar a geração excessiva de  $H_2O_2$ .



**Figura 2** – Atividade enzimática da glutatona peroxidase (GPx) e dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido adiposo gonadal de camundongas fêmeas alimentadas com dieta padrão (CON) ou dieta de cafeteria (CAF). As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. Asteriscos representam significância estatística de acordo com o teste t-student: \*\*  $p < 0.01$ . (n=5-9). MDA: malondialdeído.

Em relação aos níveis de TBARS houve aumento de 25,35% no grupo CAF em comparação ao grupo CON. O aumento dos níveis de TBARS, biomarcador de peroxidação lipídica, aponta que apesar do aumento na atividade da GPx, os lipídios celulares ainda estão expostos ao dano oxidativo na condição de obesidade induzida por dieta de cafeteria.

## Conclusões

Alterações no tecido adiposo ocorrem com o desenvolvimento da obesidade induzida por dieta de cafeteria. O tecido adiposo gonadal de camundongas fêmeas parece desenvolver estresse oxidativo, conforme indicado pelos níveis aumentados de peroxidação lipídica (TBARS), um achado que pode ser atribuído a possível produção excessiva de espécies reativas, frequentemente descrita na condição de obesidade. Outro provável indicador indireto da presença exacerbada de espécies reativas foi a atividade da GPx, a enzima antioxidante que é parte de um sistema defesa celular responsável pela neutralização do  $H_2O_2$ . Experimentos adicionais poderão estabelecer o papel fisiológico e os eventos moleculares que levam ao aumento observado na atividade da GPx. A mudança na atividade da GPx e dos níveis de TBARS indicam que outras enzimas do sistema antioxidante do qual a GPx é parte também podem ser afetadas, bem como outras estruturas celulares além dos lipídeos podem sofrer mais dano oxidativo na condição de obesidade.

## Agradecimentos

CNPq, Capes e Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

## Referências

GASPARIN, F. R. S.; CARRENO, F. O.; MEWES, J.M.; GILGLIONI E. H., PAGADIGORRIA, C. L. S.; NATALI, M. R. M.; UTSUNOMIYA, K. S.; CONSTANTIN, R. P.; OUCHIDA, A. T.; CURTI, C.; GAEMERS, I. C.; ELFERINK, R.; CONSTANTIN, J. and ISHII-IWAMOTO, E. L. Sex differences in the development of hepatic steatosis in cafeteria diet-induced obesity in young mice, **Biochim Biophys Acta**, v. 1864, p. 2495-2509, 2018.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 70, n. 1, p. 158-169, 1967.