

EFEITO DA EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL E NA LACTAÇÃO A ADOÇANTES NÃO CALÓRICOS SOBRE O TECIDO ADIPOSEO DO RATO ADULTO

Letícia Ferreira Barbosa (PIBIC-CNPq), Silvano Piovan, Natália Scaliante, Cecília E. Mareze da Costa (Orientadora); e-mail: cemcosta@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá (UEM) /
Departamento de Ciências Fisiológicas (DFS) / Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: 2.07.02.05-1 Fisiologia Endócrina

Palavras-chave: sucralose, *stevia*, lipólise.

Resumo:

O uso de adoçantes não calóricos cresceu significativamente nas últimas décadas e, apesar do uso disseminado, ainda há dúvidas a respeito da seguridade para à saúde, especialmente para mulheres grávidas ou em lactação. Assim, este trabalho investigou se a ingestão de adoçantes não calóricos (rebaudiosídeo A e sucralose) por ratas Wistar prenhas e lactantes, podem interferir na programação metabólica do tecido adiposo da prole adulta (120 dias de idade), quando alimentada com dieta padrão ou com dieta hiperlipídica (HFD). Foram avaliados, na prole adulta, os seguintes parâmetros: adiposidade corporal, diâmetro dos adipócitos, quantidade de gordura hepática e muscular e a atividade lipolítica basal e estimulada (isoproterenol) do tecido adiposo retroperitoneal. Os resultados obtidos mostraram que a ingestão desses adoçantes, durante a gravidez e a lactação, interferiu na resposta adrenérgica do tecido adiposo retroperitoneal da prole adulta, reduzindo a lipólise estimulada por isoproterenol, tanto quando a prole foi alimentada apenas com dieta padrão como quando recebeu dieta HFD na idade adulta.

Introdução

Um dos adoçantes não calóricos (ANC) mais utilizados mundialmente é a sucralose, um adoçante artificial derivado da sacarose com alto poder edulcorante (600 vezes maior que a sacarose)¹. Outros ANC que, nos últimos anos, vem ocupando espaço neste mercado de produtos dietéticos são os glicosídeos do esteviol extraídos das folhas da *Stevia rebaudiana*, com destaque para o esteviosídeo e o rebaudiosídeo A que, por serem naturais, ganham a preferência de uma parcela significativa de usuários². Apesar do uso disseminado dos ANC, ainda há dúvidas a respeito da seguridade para à saúde, especialmente para mulheres grávidas ou em

lactação³. Assim, neste trabalho, ratas wistar ingeriram sucralose ou rebaudiosídeo A (Reb A), durante toda a gravidez e lactação, e foram avaliados parâmetros morfológicos e fisiológicos do tecido adiposo da prole adulta, alimentadas com dieta padrão ou com dieta obesogênica.

Materiais e métodos

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEM (n.º. 2807101018). Ratas e ratos Wistar foram mantidos nas seguintes condições: temperatura de 25°C, fotoperíodo de 12h claro/12h escuro, ração padrão (Nuvital®) ou dieta hiperlipídica (HFD) e água pura ou contendo a solução de ANC. Ratas, com 45 dias de idade, começaram a receber os ANC nos bebedouros 20 dias antes de serem colocadas para cruzar e continuaram a ingerir os adoçantes durante toda a gravidez e a lactação. Foram estabelecidos três grupos experimentais: 1) Controle (n=8): recebeu água pura; 2) Reb A (n=8), recebeu solução de rebaudiosídeo A (35mg/L); 3) Sucralose (n=8), recebeu solução de sucralose (15mg/kg/L). As concentrações de ANC foram definidas pela IDA (ingestão diária aceitável). A prole macho dessas fêmeas receberam água pura e ração balanceada padrão até 90 dias de idade, a partir dessa idade, metade dos animais de cada grupo passou a ser alimentado com dieta HFD, estabelecendo-se assim seis grupos experimentais: três com dieta padrão e três com dieta HFD. A prole (jejum noturno de 12h) foi eutanasiada com 120 dias de idade por sobrecarga anestésica e submetidos à laparotomia mediana para retirada e pesagem do fígado, do músculo gastrocnêmio e dos depósitos de tecido adiposo branco: periepididimal, retroperitoneal, mesentérica e subcutânea.

A quantificação da gordura hepática e muscular foi determinada por gravimetria. Os adipócitos do depósito retroperitoneal foram isolados de acordo com Rodbell (1964)⁴ e o diâmetro determinado pelo sistema de Análise Image – Pro Plus 4.5 – Media Cybernetics. Para o teste de atividade lipolítica, 20µL de células adiposas foram incubadas em tampão GTB (140µL) com 10µL de adenosina (0,05µL/mL), em banho-maria a 37°C por 60min. Em seguida, foram acrescentados 10µL de tampão GTB contendo ou não insulina (1nM) e mais 30µL do mesmo tampão contendo adenosina deaminase (ADA) (0,2U/mL) e ácido ascórbico com ou sem isoproterenol (1µM). Após 30min de incubação, a reação foi bloqueada (gelo), centrifugada e amostras do infranadante foram colhidas para a determinação quantitativa de glicerol (Free Glycerol Reagent – Sigma). Os resultados foram submetidos à análise de variância e pós-teste de Bonferroni, com 5% de nível de significância.

Resultados e Discussão

A ingestão de sucralose ou Reb A por ratas, durante a gravidez e a lactação, não interferiu significativamente na quantidade de gordura hepática e muscular (Tabela 1), na adiposidade corporal (Figura 1A), no diâmetro dos adipócitos (Figura 1B) e na atividade lipolítica basal do tecido adiposo retroperitoneal (Figura 1C) da prole na fase adulta (120 dias de idade), tanto alimentada com dieta padrão como com dieta HFD. Quando, no entanto, se avaliou a atividade lipolítica estimulada por isoproterenol (agonista β adrenérgico), a prole de mães que ingeriram os ANC apresentou respostas significativamente reduzidas, isto tanto para o grupo sucralose como para o grupo Reb A e, assim como, para aqueles ratos adultos que foram alimentados apenas com dieta padrão, como naqueles que receberam dieta HFD a partir dos 90 dias de idade (Figura 1D).

Tabela 1. Efeito da ingestão de adoçantes não calóricos por ratas, durante a gravidez e lactação, na quantidade de gorduras no fígado e no músculo gastrocnêmio da prole adulta, alimentada com dieta padrão ou dieta hiperlipídica (HFD).

Grupos	FÍGADO		MÚSCULO	
	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
Controle/Padrão	210,08 ± 12,701	247,57 ± 32,767	47,563 ± 2,8181	191,31 ± 19,234
Controle/HFD	337,19 ± 47,947*	694,44 ± 83,312*	51,250 ± 3,3594	325,56 ± 48,693
Reb A/Padrão	252,63 ± 12,527	373,19 ± 28,126	47,500 ± 2,1609	206,88 ± 22,559
Reb A/HFD	294,33 ± 14,909	902,44 ± 83,362*	47,813 ± 2,3735	346,13 ± 45,718
Sucralose/Padrão	201,96 ± 11,620	220,78 ± 17,790	48,833 ± 4,2598	190,22 ± 36,061
Sucralose/HFD	276,34 ± 16,004	672,22 ± 83,569*	44,550 ± 2,4827	377,08 ± 59,357*

* $p < 0,05$ difere do mesmo grupo alimentado com ração padrão. Reb A = rebaudiosídeo A

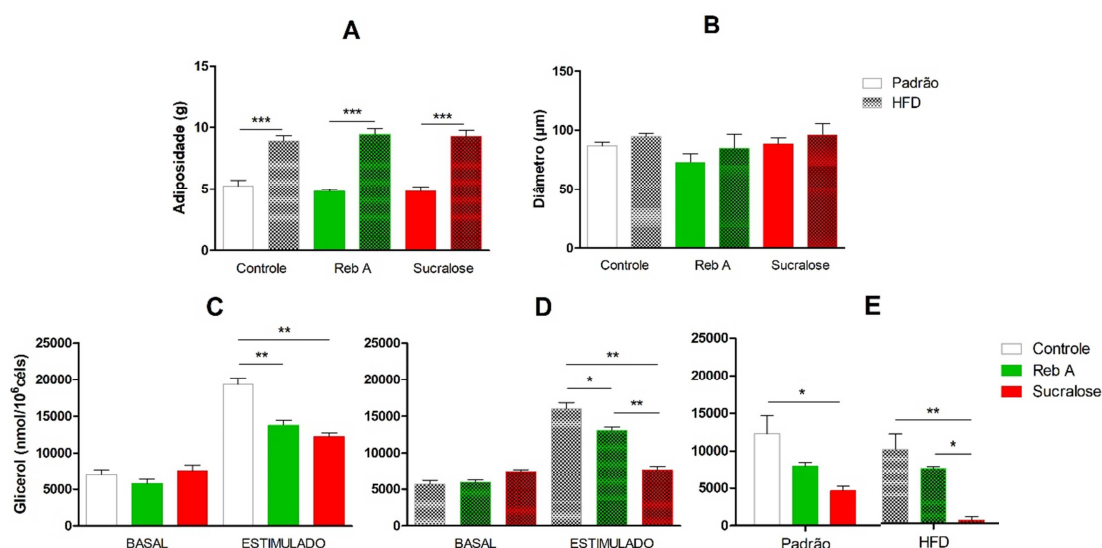


Figura 1. A) Adiposidade corporal (g/100g p.c); B) Diâmetro (μ m) de adipócitos retroperitoneais; C) Atividade lipolítica basal e estimulada do tecido adiposo retroperitoneal da prole alimentada com dieta padrão. D) Atividade lipolítica basal e estimulada do tecido

adiposo retroperitoneal da prole alimentada com HFD. E) Diferença entre atividade lipolítica basal e estimulada. * $p < 0,01$ e ** $p < 0,001$ difere dos ratos não tratados; *** $p < 0,0001$ difere dos ratos padrão.

A redução da resposta adrenérgica fica ainda mais evidente quando se calcula a diferença entre a resposta basal e estimulada por isoproterenol (Figura 1E), mostrando também que os adipócitos dos ratos, cujas mães tinham ingerido sucralose na gravidez e na lactação e que foram alimentados com dieta HFD dos 90 aos 120 dias de idade, praticamente não responderam ao estímulo β adrenérgico.

Conclusões

A ingestão de sucralose ou Reb A por ratas, durante a gravidez e a lactação, interferiu na resposta adrenérgica do tecido adiposo retroperitoneal da prole adulta, reduzindo a lipólise estimulada por isoproterenol.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).
Ao Nepron (DBQ-UEM) por fornecer o adoçante natural testado.

Referências

1. MAGNUSON, B.A.; ROBERTS, A.; NESTMANN, E.R. Critical review of the current literature on the safety of sucralose. **Food and Chemical Toxicology**, v. 106, p. 324-355, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691517302818?via%3Dihub>>. Acesso em: 16/10/2019.
2. SHARMA, S.; WALIA, S.; SINGH, B.; KUMAR, R. Comprehensive review on agro technologies of low-calorie natural sweetener stevia (Stevia rebaudiana Bertoni): a boon to diabetic patients. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 96(6):1867-79, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26467712/>>. Acesso em: 31/08/21.
3. ARCHIBALD, A.J.; DOLINSKY, V.W.; AZAD, M.B. Early-Life Exposure to Non-Nutritive Sweeteners and the Developmental Origins of Childhood Obesity: Global Evidence from Human and Rodent Studies. **Nutrients**, v. 10, n. 2, p. 195, 2018. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-6643/10/2/194>>. Acesso em: 16/10/2019.
4. RODBELL, M. Metabolism of isolated fat cells. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 239, n. 2, p. 375-380, 1964. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/239/2/375.long>>. Acesso em: 16/10/2019.