SOBREALIMENTAÇÃO NEONATAL E CONTROLE DO METABOLISMO ENERGÉTICO NA VIDA ADULTA

Leonardo Consoli Sertão (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Junior Steven Marcellus Jean, Letícia Ferreira Barbosa, Giovanna Sachelli Peres, Scarlett Rodrigues Raposo, Louhayni Vitória Garcia Alberto, Godfred Abayie Opoku, Kayla Belinato Oliveira Paulo Cezar de Souza Mathias, Douglas Lopes de Almeida (Orientador) E-mail: dlalmeida@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Ciências Biológicas, Bioquímica, Metabolismo e Bioenergética

Palavras-chave: DOHaD, Obesidade, sobrealimentação neonatal

RESUMO

A obesidade precoce programa distúrbios metabólicos e autonômicos duradouros. Este estudo investigou os efeitos da sobrenutrição neonatal em ratos Wistar machos adultos sobre o balanço energético, adiposidade e atividade nervosa simpática direcionada ao tecido adiposo marrom (BAT-SNA). Ninhadas foram padronizadas no dia pós-natal 2 (DPN2) em 9 filhotes (NL, n=6) ou 3 filhotes (SL, n=12), com acompanhamento do peso e consumo alimentar do desmame (DPN21) até a vida adulta (DPN105). Registrou-se a eletrofisiologia do BAT-SNA em três horários do ciclo diário (08:30, 14:30 e 19:30 h), além da quantificação dos depósitos adiposos viscerais. Os animais SL desenvolveram hipercrescimento ponderal progressivo, maior ingestão alimentar acumulada e aumento expressivo no índice de adiposidade visceral ($P < 0{,}001$). Funcionalmente, o grupo SL apresentou supressão sustentada do tônus simpático e perda da ritmicidade circadiana do BAT-SNA, com reduções significativas nos horários de transição claro-escuro ($P < 0{,}01$). Conclui-se que a sobrecarga nutricional precoce programa o fenótipo obeso na maturidade associado à disfunção autonômica e prejuízo no controle circadiano da termogênese.

INTRODUÇÃO

Períodos plásticos do desenvolvimento, onde há abundante proliferação e diferenciação celulares com concomitante estabelecimento de vias neuro-hormonais e intracelulares do metabolismo, são chave na formação do comportamento de vias regulatórias do metabolismo para o ciclo vital dos animais (ALMEIDA *et al.*, 2019). Ao longo de toda a vida, mas principalmente nestes períodos plásticos do desenvolvimento, a interação entre as pressões ambientais e as características genéticas dos mamíferos será determinante para o funcionamento do metabolismo e para o desenvolvimento do fenótipo animal (GLUCKMAN; HANSON, 2008). Evidências sólidas demonstram que estresses nutricionais durante o período perinatal modulam a sinalização celular para a regulação de longo prazo do metabolismo (BARBOSA *et al.*, 1999; BOULLU-CIOCCA *et al.*, 2005; GODFREY *et al.*, 2007; PLAGEMANN *et al.*, 2012). Estudos utilizando o modelo de redução de ninhada para indução de obesidade no início da vida demonstraram que o aumento da ingesta calórica durante o período de lactação leva a um rápido ganho de peso corporal, com acentuado acúmulo de gordura que perdura na vida adulta

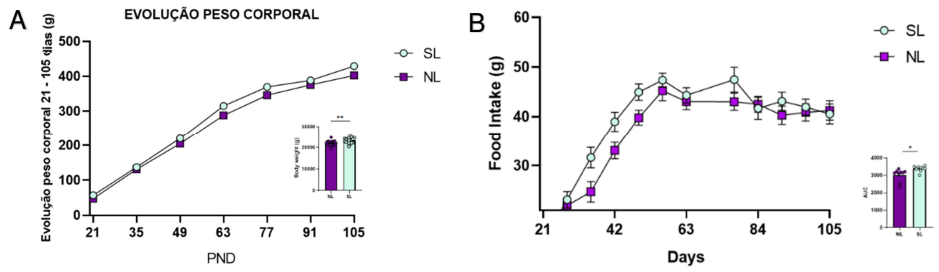
acompanhado de intolerância a glicose, hiperinsulinemia em jejum, hipercorticosteronemia e redução do gasto energético, com menor atividade no tecido adiposo marrom (ALMEIDA *et al.*, 2022; DE ALMEIDA *et al.*, 2013). O aumento da circulação de corticosterona e de insulina sinalizam modificações nas vias de sinalização e na resposta aos efeitos destes hormônios. Considerando as evidências da literatura acerca das alterações hormonais associadas à programação metabólica precoce, o presente projeto de pesquisa tem por hipótese que a sobrealimentação durante o período de lactação, induzida pela redução de ninhada, exacerba a resposta à corticosterona e altera o controle autonômico da termogênese via supressão da atividade nervosa simpática direcionada ao tecido adiposo marrom (BAT-SNA), perpetuando o fenótipo obeso e as desregulações metabólicas observadas na fase adulta em ratos Wistar machos.

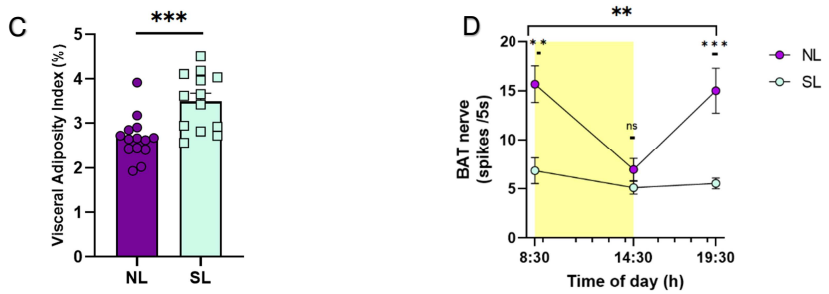
MATERIAIS E MÉTODOS

Ratas Wistar prenhes (N = 18) foram mantidas em condições controladas de temperatura (22 ± 2 °C), ciclo claro/escuro de 12 h e livre acesso a água e ração comercial (Nuvital®). No dia pós-natal 2 (DPN2), as ninhadas foram padronizadas em: ninhada normal (NL, controle: 9 filhotes/lactante, sendo 6 machos e 3 fêmeas; N = 6) ou redução de ninhada para indução de sobrenutrição precoce (SL: 3 filhotes machos/lactante; N = 12). No DPN21, as matrizes e filhotes fêmeas foram eutanasiadas por sobredose anestésica (cetamina 300 µL/kg e xilazina 30 µL/kg, i.p.) seguida de decapitação em guilhotina (Insight®). Os machos foram alojados a 3 animais/caixa. A evolução ponderal foi acompanhada semanalmente e o consumo alimentar relativo (g/animal/dia) calculado pela diferença de sobra de ração. No DPN100, os animais iniciaram os protocolos in vivo (função autonômica simpática). Após jejum de 3 h e anestesia, animais de ambos os grupos foram submetidos a incisão cirúrgica na região cervical posterior para exposição do tecido adiposo marrom interescapular e dissecção dos ramos nervosos simpáticos intercostais direitos. Um par de eletrodos de prata (0,6 mm) foi posicionado sob o nervo e isolado com silicone mineral. Os sinais elétricos foram captados por sistema de aquisição (Bio-Amplificador, Insight®), amplificados (10.000 ×) e filtrados em passa-banda de 500–5000 Hz. O registro contínuo foi realizado por 25 min (Monitor Bio-Amplificator, Insight®). A taxa de disparos (*spikes*) foi quantificada em intervalos de 5 s, considerando apenas os picos que ultrapassaram o limiar basal de 0 mV.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

[DL1] Comentário: Acrescentar algum texto, apresentando os resultados, e discussão, ainda que sucintos





(A) Evolução da massa corporal: curva temporal de ganho de peso acompanhada semanalmente do DPN 21 ao DPN 105 em ratos dos grupos controle (NL) e redução de ninhada (SL); o gráfico em destaque (*inset*) ilustra a área sob a curva (AUC) da evolução ponderal acumulada no período. **(B)** Consumo alimentar e ingestão acumulada: curva temporal de consumo diário de ração avaliada do 21º ao 105º dia de vida nos grupos NL e SL, com o *inset* indicando a AUC da ingestão alimentar acumulada ao longo do protocolo experimental. **(C)** Índice de adiposidade visceral: razão percentual entre o somatório dos depósitos de gordura visceral e a massa corporal final aos 105 dias de vida; as barras indicam a média $\pm$ EPM (ou mediana e intervalo interquartil) com a dispersão dos pontos individuais sobreposta. **(D)** Atividade nervosa simpática direcionada ao tecido adiposo marrom (BAT-SNA): taxa de disparos elétricos (*spikes* / 5 s) registrada em nervos simpáticos intercostais nos horários de 08:30, 14:30 e 19:30, onde o sombreado amarelo demarca a fase clara do ciclo circadiano (iniciada às 07:00). Os dados estão expressos como média $\pm$ EPM ($n = 18$/grupo). $* p < 0{,}05$ vs. NL (Teste *t* de Student não pareado para os painéis **A** e **B**; Teste de Mann-Whitney para o painel **C**; Two-Way ANOVA seguida de pós-teste de Šídák para o painel **D**).

A sobrenutrição neonatal induzida por redução de ninhada (SL) promoveu hipercrescimento ponderal persistente até a vida adulta (DPN105), com aumento significativo da AUC de ganho de peso (Fig. A) e da ingestão alimentar acumulada (Fig. B). A hiperfagia observada reflete alterações precoces nos circuitos hipotalâmicos de saciedade, o que, somado ao balanço energético positivo, culminou no aumento expressivo do índice de adiposidade visceral nos animais SL (Fig. C). Funcionalmente, os animais SL apresentaram uma marcante supressão da atividade nervosa simpática direcionada ao tecido adiposo marrom (BAT-SNA) e perda do padrão fisiológico de oscilação diurna, com reduções significativas nos horários de transição (08:30 e 19:30 – Fig. D). Como o BAT depende da sinalização adrenérgica para a termogênese via UCP1, a hipoativação simpática basal aliada ao desajuste circadiano compromete o gasto energético diário. Essa desregulação autonômica atua como mecanismo-chave na consolidação da obesidade visceral decorrente da programação metabólica precoce.

CONCLUSÕES

A sobre nutrição neonatal induzida pela redução de ninhada promoveu alterações metabólicas e autonômicas persistentes na fase adulta de ratos Wistar. O modelo caracterizou-se por hipercrescimento ponderal progressivo, aumento expressivo do consumo alimentar acumulado e elevação significativa no índice de adiposidade visceral. Adicionalmente, os animais SL apresentaram disfunção no controle autonômico da termogênese, evidenciada pela supressão do tônus simpático direcionado ao tecido adiposo marrom (BAT-SNA) e perda do padrão fisiológico de oscilação diurna dos disparos nervosos. Em conjunto, os resultados demonstram que a sobrecarga nutricional no período pós-natal precoce programa negativamente

o balanço energético, predispondo à obesidade visceral associada à hipoativação simpática e desregulação circadiana do tecido adiposo marrom.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – Código de Financiamento 001), do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Estudo do Pâncreas e suas Afecções Metabólicas (INSPAM) e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (INCT-DOHaD). Agradeço também à Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica pela infraestrutura e suporte técnico concedidos para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. L.; MOREIRA, V. M.; CARDOSO, L. E.; JUNIOR, M. D. F. *et al.* Lean in one way, in obesity another: effects of moderate exercise in brown adipose tissue of early overfed male Wistar rats. **Int J Obes (Lond)**, 46, n. 1, p. 137-143, Jan 2022.

ALMEIDA, D. L.; PAVANELLO, A.; SAAVEDRA, L. P.; PEREIRA, T. S. *et al.* Environmental monitoring and the developmental origins of health and disease. **J Dev Orig Health Dis**, 10, n. 6, p. 608-615, Dec 2019.

BARBOSA, F. B.; MEDINA, A. R.; BALBO, S. L.; DE FREITAS MATHIAS, P. C. Low protein diets administered to lactating rats affect in a time-dependent manner the development of young. **Res Commun Mol Pathol Pharmacol**, 106, n. 1-2, p. 63-76, 1999.

BOULLU-CIOCCA, S.; DUTOUR, A.; GUILLAUME, V.; ACHARD, V. *et al.* Postnatal diet-induced obesity in rats upregulates systemic and adipose tissue glucocorticoid metabolism during development and in adulthood: its relationship with the metabolic syndrome. **Diabetes**, 54, n. 1, p. 197-203, Jan 2005.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Developmental and epigenetic pathways to obesity: an evolutionary-developmental perspective. **Int J Obes (Lond)**, 32 Suppl 7, p. S62-71, Dec 2008.

GODFREY, K. M.; LILLYCROP, K. A.; BURDGE, G. C.; GLUCKMAN, P. D. *et al.* Epigenetic mechanisms and the mismatch concept of the developmental origins of health and disease. **Pediatr Res**, 61, n. 5 Pt 2, p. 5R-10R, May 2007.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; SCHELLONG, K.; SCHULZ, S. *et al.* Early postnatal life as a critical time window for determination of long-term metabolic health. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, 26, n. 5, p. 641-653, Oct 2012.