

Expresión diferencial de los neuropéptidos que regulan la ingesta en distintos núcleos hipotalámicos en ratas obesas alimentadas con dieta de cafetería

María Florencia, Acutain

Dpto. Bioquímica Clínica, Facultad de Bioquímica, Universidad Nacional del Litoral.

Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL), UNL-CONICET.

Estudiante de Licenciatura en Biotecnología (FBCB - UNL)

facutain@yahoo.com

Palabras claves: Neuropéptidos, obesidad

Área temática: Ciencias Biológicas

Sub-área: Bioquímica

INTRODUCCIÓN

Actualmente la obesidad es un trastorno que amenaza la salud pública en el mundo desarrollado. Es un asesino silencioso enmascarado en muchas afecciones, como la hipertensión y la diabetes (Taubes, 1998). Si bien es una enfermedad multifactorial, probablemente la causa más importante sea el exceso en la comida, estimulado por la gran disponibilidad de alimentos ricos en grasas y azúcares, sumado a la inactividad física. El hipotálamo ejerce un rol central en la regulación de la ingesta, recibiendo y traduciendo señales relacionadas con el estado de energía del cuerpo, (Schwartz et al, 2000). Esto se debe entre otras cosas, a la presencia de dos poblaciones de neuronas una de ellas productora de los neuropéptidos orexigénicos, como la Proteína Relacionada al Agouti (AgRP) y el Neuropéptido Y (NPY); mientras que la otra población de neuronas sintetiza los péptidos anorexígenos Transcripto Relacionado a las Anfetaminas y Cocaína (CART) y pro-opiomelanocortina (POMC) (Schwartz et al, 2000). Estas neuronas, poseen además receptores para diversas hormonas como leptina (RL), insulina (RI), etc. permitiendo que las interacciones entre estas sustancias participen en el delicado equilibrio entre el apetito y la saciedad (Mauvais-Jarvis, 2013).

OBJETIVOS

Objetivo general: Ampliar el conocimiento acerca de la influencia de la obesidad sobre el desbalance en el control de la ingesta, representado por los neuropéptidos hipotalámicos orexígenos/anorexígenos.

Objetivos específicos:

- 1) Caracterizar un modelo dietario experimental en el que se induzca obesidad en ratas hembras a través de la ingesta de una dieta de cafetería (CAF).
- 2) Estudiar los aspectos metabólicos en las ratas alimentadas con dieta CAF (obesidad, diabetes, síndrome metabólico)
- 3) Evaluar el estado de los mecanismos cerebrales que regulan la ingesta energética de las ratas alimentadas con dieta CAF (expresión de neuropéptidos orexígenos/anorexígenos y receptores hormonales) en tres núcleos hipotalámicos: arcuato (ARC), ventromediano (VMN) y paraventricular (PVN).

METODOLOGÍA

Estudios in-vivo:

Se emplearon 36 ratas Wistar hembra, que fueron divididas en dos grupos desde el destete y alimentadas con dieta control (C) o con una dieta de cafetería (CAF) por 20 semanas. La dieta C consistió en alimento balanceado para roedores (Nutrición Animal, Argentina); y la CAF, estuvo compuesta por el mismo alimento balanceado sumado a una selección de cuatro alimentos para humanos de alto contenido energético y palatabilidad. Durante la experiencia se midió la ingesta, en términos de masa y energía, y el peso corporal. En la semana 19 del tratamiento se realizó un test de tolerancia intraperitoneal a la glucosa (TTIPG) (Andreoli et al, 2007).

Estudios post-mortem:

Concluido el período experimental, se sacrificaron los animales y se recolectó la sangre troncal; se removió el cerebro rápidamente, se congeló y posteriormente se disecaron diversas regiones del hipotálamo por micropunches (ARC, VMN y PVN), según las coordenadas del atlas Paxinos (Paxinos, 2005). Además, se pesaron los parches de tejido adiposo perigonadal y perirenal.

En los núcleos extraídos se evaluaron los niveles de expresión de los péptidos NPY, AgRP, POMC y CART, utilizando RT-PCR cuantitativa. También, por la misma metodología, se evaluaron los niveles de expresión de RL y RI.

Para determinar el impacto del tratamiento sobre diversos aspectos metabólicos se determinaron las concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos y colesterol total por métodos espectrofotométricos. Además, se evaluaron los niveles de insulina y leptina circulantes utilizando radioinmuno análisis (RIA).

Análisis estadístico:

Los datos obtenidos fueron analizados con el test estadístico de Mann-Whitney. Se consideraron diferencias significativas aquellas con $p < 0.05$ y se señalan con (*).

RESULTADOS

Análisis de estudios in vivo:

Se observó un aumento del peso corporal significativo a partir del día 98, que se mantuvo hasta el final del tratamiento, marcado por una diferencia en el peso corporal superior al 10% (**Gráfico 1**). Se observó un aumento del 21% en la ingesta energética, ligado a una disminución del 15% en la ingesta en masa en el grupo experimental (**Gráfico 2**).

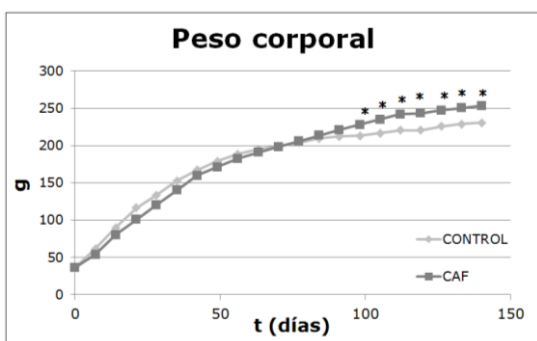


Gráfico 1. Curva de peso corporal.

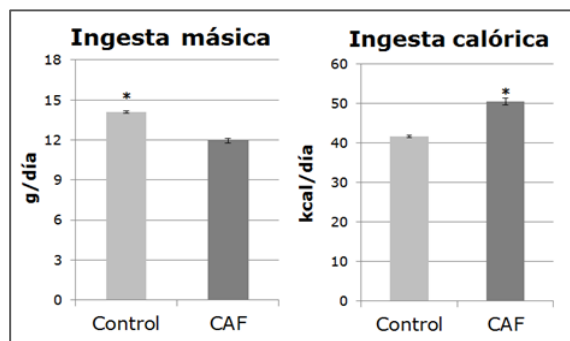


Gráfico 2. Ingesta másica y calórica

Respecto al IPGTT no se hallaron cambios significativos en el área bajo la curva (ABC) entre los dos grupos (**Gráfico 3**).

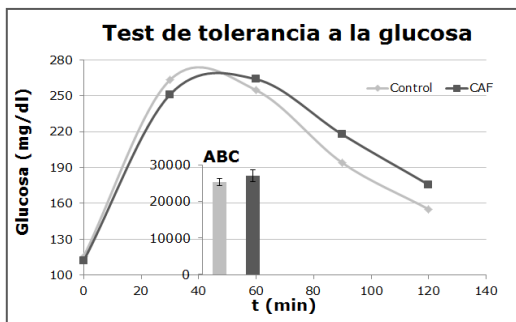


Gráfico 3. Test de tolerancia a la glucosa.

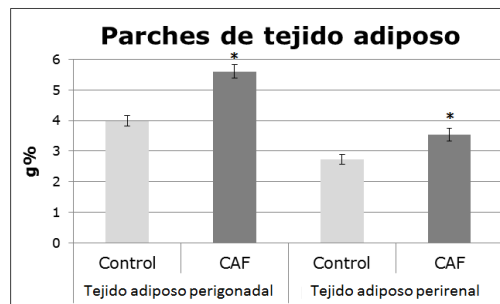


Gráfico 4. peso de los tejidos adiposos perigonadal y perirenal

Análisis de los tejidos adiposos:

El tratamiento con dieta CAF incrementó el peso de ambos tejidos adiposos evaluados, siendo mayor la diferencia en el tejido adiposo perigonadal (**Gráfico 4**). Los resultados se expresan como porcentaje respecto del peso corporal total.

Análisis en suero:

Se midieron los niveles circulantes de triglicéridos, glucosa y colesterol sin observarse cambios estadísticamente significativos (**Gráfico 5**).

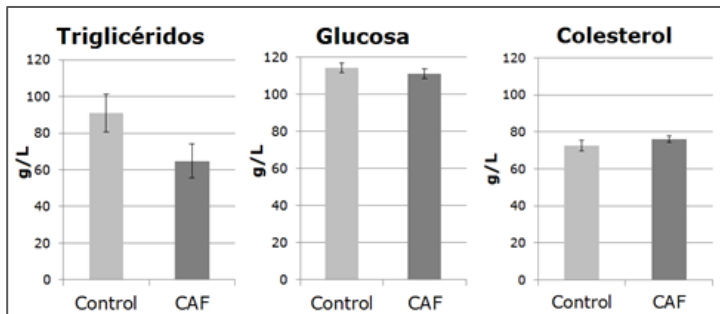


Gráfico 5. Concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos y colesterol total.

Respecto a las concentraciones de insulina y leptina, se encontró un aumento en los niveles de esta última en los animales alimentados con dieta CAF. (**Gráfico 6**)

Análisis de los niveles de expresión de los neuropéptidos y receptores hormonales:

Se obtuvieron diferentes niveles de expresión génica en los núcleos evaluados, presentando el VMN un aumento en los niveles de AGRP y en el PVN un aumento tanto de AGRP y como NPY. En cambio, en el ARC se observó una disminución en la expresión de AGRP y un aumento en la del POMC.

Respecto a los niveles de expresión de los receptores hormonales, se encontró un aumento en RL solo en el VMN, mientras que en RI no se hallaron cambios. (**Tabla 1**)

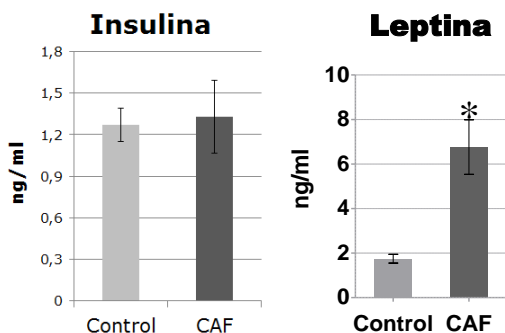


Gráfico 6. Niveles circulantes de insulina y leptina.

Tabla 1. Niveles de expresión génica de los neuropéptidos, RI y RL en PVN, VMN y ARC.

	PVN	VMN	ARC
POMC	■	■	↑
CART	■	■	■
AGRP	↑	↑	↓
NPY	↑	■	■
RI	■	■	■
RL	■	↑	■

CONCLUSIONES

En las ratas alimentadas con dieta CAF se observó un aumento en ingesta calórica y el peso corporal, sin presentar hiperfagia o síndrome metabólico, representado por ausencia de cambios en los niveles de glucosa, insulina triglicéridos y colesterol circulantes, así como el ABC de los TTIPG. Este aumento en la ingesta energética, está relacionado con las señales orexigénicas que se hallaron en los núcleos VMN y PVN, dadas por el incremento en la expresión de AGRP y NPY.

Por otro lado, la acción orexigénica registrada en los núcleos VMN y PVN fue ligeramente contrarrestada por el núcleo ARC, dada por una reducción en los niveles de AGRP y un aumento en los niveles de POMC.

Como era esperado, se observó un aumento en los niveles circulantes de leptina, que se corresponde con un aumento en la masa de los tejidos adiposos. Esto genera una resistencia central a la leptina que, por lo que se observó impactaría en mayor medida en el VMN, con un aumento en la expresión de receptor de leptina.

A partir de los resultados obtenidos concluimos que la dieta CAF afecta de manera diferencial la expresión de los neuropéptidos y es un buen modelo de obesidad inducida por la dieta, donde el hipotálamo desregula la ingesta sin desarrollar un síndrome metabólico.

BIBLIOGRAFIA

- **Taubes, G.**, 1998. As obesity rates rise, experts struggle to explain why. *Science*. 280,1367-1368.
- **Schwartz, M.W., Woods S.C, Porte D, Seeley Jr., R.J, Baskin D.G.**, 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 404 661-671.
- **Mauvais-Jarvis F., Clegg D.J., Hevener A.L.**, 2013. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocr Rev*. 34 309-338.
- **Kretschmer B.D., Schelling P., Beier N., Liebscher C., Treutel S, Kruger N., et al.**, 2005. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Sci*. 76 1553-1573.
- **Andreoli M.F., Scalerandi M.V., Borel I.M, Bernal C.A.**, 2007. Effects of CLA at different dietary fat levels on the nutritional status of rats during protein repletion. *Nutrition*. 23 827-835.
- **Paxinos G., Watson C.**, 2005. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5th ed. New York. Elsevier Academic Press.