



## **Efeitos da deleção subunidade alfa 7 do receptor nicotínico colinérgico ( $\alpha 7nAChR$ ) em neurônios POMC hipotalâmicos na homeostase energética em camundongos expostos à dieta hiperlipídica e hipercalórica.**

**Palavras-Chave: POMC-1,  $\alpha 7nAChR$  -2, HOMEOSTASE ENERGÉTICA-3**

**Autores(as):**

**MELISSA SANTOS DE AGUIAR – UNICAMP**

**Ms. WENICIOS FERREIRA CHAVES (coorientador) - UNICAMP**

**Prof<sup>(a)</sup>. Dr<sup>(a)</sup>. MARCIO ALBERTO TORSONI (orientador), FCA - UNICAMP**

---

### **INTRODUÇÃO:**

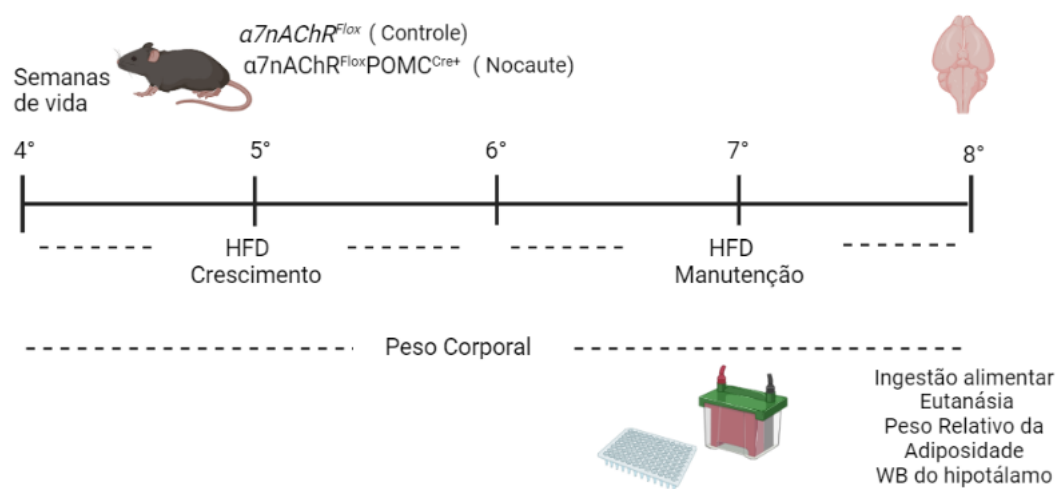
A ingestão excessiva de alimentos ultraprocessados têm contribuído para a maior incidência mundial de obesidade<sup>1</sup>. Essa última, decorre de um desbalanço energético, que pode estar associado ao comprometimento da sinalização no hipotálamo, estrutura central responsável por mantê-lo<sup>2</sup>. Nesse sentido, a subunidade alfa 7 do receptor nicotínico colinérgico ( $\alpha 7nAChR$ ) expressa em neurônios hipotalâmicos parece modular a expressão de neuropeptídeos que favorecem o balanço energético negativo, como o transcrito regulado por cocaína e anfetamina (CART) a pró-opiomelanocortina (POMC)<sup>3</sup>. Esse último, após clivagens pelas pró-hormônio convertases 1 e 2 (PC1 e 2) geram a alfa-Melanotropina ( $\alpha$ -MSH), que ativa receptores da via das melanocortinas (MCR). Dessa forma, seus sinais modulam o gasto energético através de mudanças no tônus do sistema nervoso simpático<sup>4,5</sup>.

Esse controle é mediado pela interação entre os neurônios hipotalâmicos e os sinais periféricos, como a insulina, peptídeos incretínicos e a leptina, capazes de indicar o status energético corporal<sup>4</sup>. Por sua vez, a efetividade desses sinais pode ser afetada pela disponibilidade ou ação de alguns receptores centrais, como a subunidade alfa 7 do receptor nicotínico colinérgico ( $\alpha 7nAChR$ )<sup>5,6</sup>. Essa subunidade é homopentamérica e atua como um canal iônico seletivo de cálcio, inicialmente descrita por seu papel relevante na resposta anti-inflamatória colinérgica<sup>3</sup>. O  $\alpha 7nAChR$ , quando ativado, recruta a via de sinalização JAK2-STAT3, assim como descrito na leptina<sup>6</sup>. Nesse sentido, o  $\alpha 7nAChR$  expresso em neurônios hipotalâmicos POMC parece contribuir para o controle da homeostase energética. Com isso, o presente estudo investigou o papel da subunidade  $\alpha 7nAChR$  em neurônios POMC hipotalâmicos na homeostase energética em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica e hipercalórica.

## METODOLOGIA:

Foram utilizados camundongos machos das linhagens B6(Cg)-Chrna7tm1.1Ehs/YakelJ ( $\alpha 7nAChRFlox$ ) e Tg(Pomc1-cre)<sup>16</sup>Lowl/J (POMCCre) da The Jackson Laboratory (EUA). Os animais  $\alpha 7nAChRFlox$  foram o controle genético, pois não possuem a deleção observada nos animais  $\alpha 7nAChRFloxPOMCCre+$ . Na 4ª semana de vida, os animais foram desmamados e genotipados através do Extract-N-Amp™ Tissue PCR Kit (XNT2, Sigma-Aldrich). Então, receberam a dieta hiperlipídica e hipercalórica de crescimento (Tabela 1) durante 4 semanas. O peso corporal dos animais foi acompanhado semanalmente.

Ao final da manipulação dietética, os animais foram submetidos ao jejum de 24h, seguido do estímulo com leptina (5 $\mu$ g/g de peso) ou solução salina (0,9%) por via intraperitoneal. Então, foi mensurada a ingestão alimentar dos animais por 12 horas por calorimetria indireta. Posteriormente, para investigar a via de sinalização JAK2-STAT3, os animais foram mantidos em jejum (12h), estimulados com leptina (2,5 $\mu$ g/g de peso) ou solução salina (0,9%) e então, eutanasiados. No hipotálamo foi analisada a pSTAT3 por *western blotting*. Por fim, foram mensurados o peso relativo dos coxins adiposos brancos (epigonadal e retroperitoneal, mesentérico e inguinal) e tecido adiposo marrom.



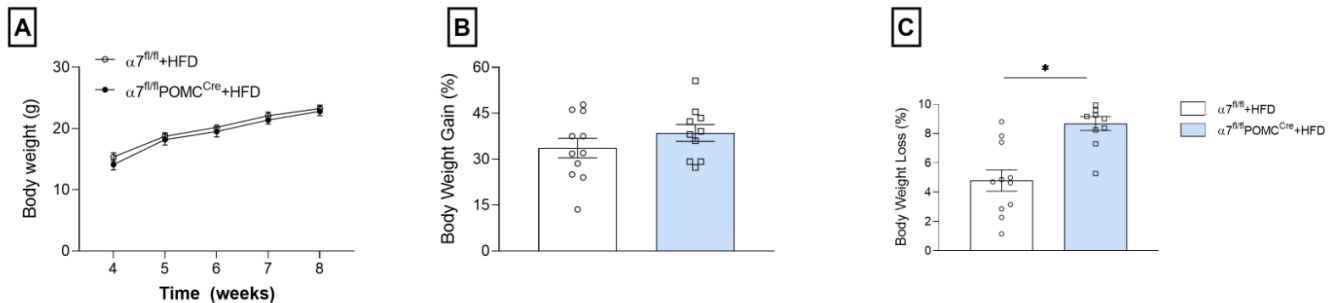
**Figura 1:** Delineamento experimental (Fonte: imagem de autoria própria).

Macronutrientes	Dieta Controle Nuvilab®	Dieta Hiperlipídica 45%
Proteínas (%/kcal)	25,71	14,09
Carboidratos (%/kcal)	63,42	41,61
Lípidios (%/kcal)	11,57	45,57
Total (%/kcal)	100,0	100,0
Densidade calórica (kcal/g)	3,5	4,6

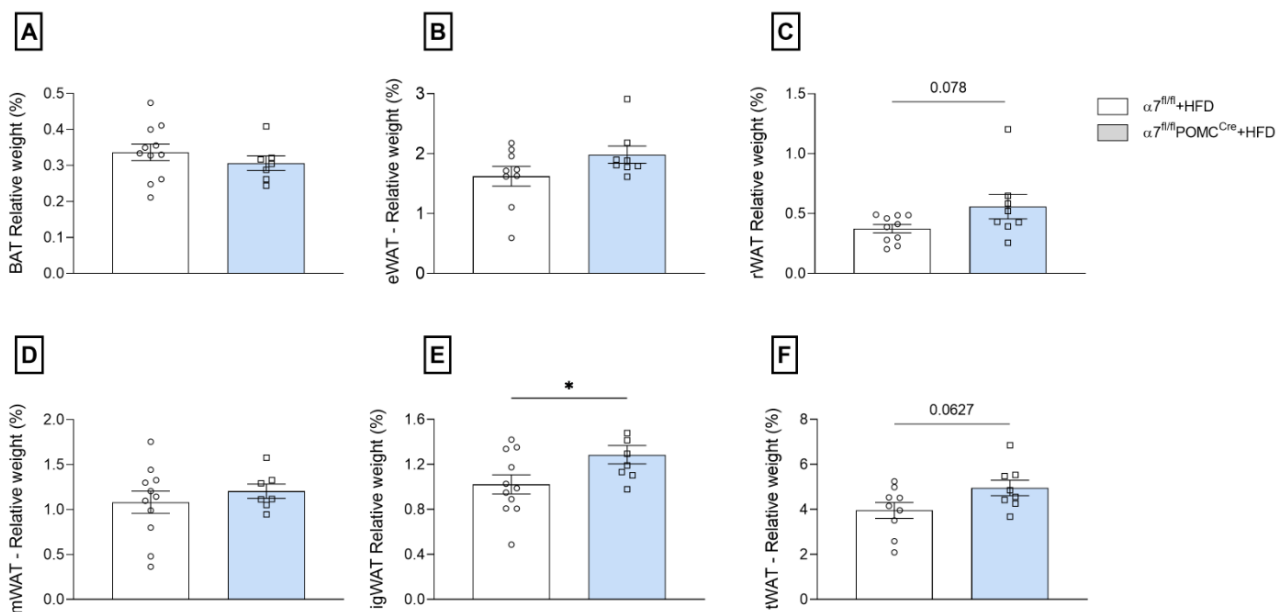
**Tabela 1:** Distribuição calórica dos macronutrientes nas dietas experimentais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

### 4.1 A ausência do $\alpha 7nAChR$ levou a uma maior perda de peso em jejum e em uma mudança da composição corporal.



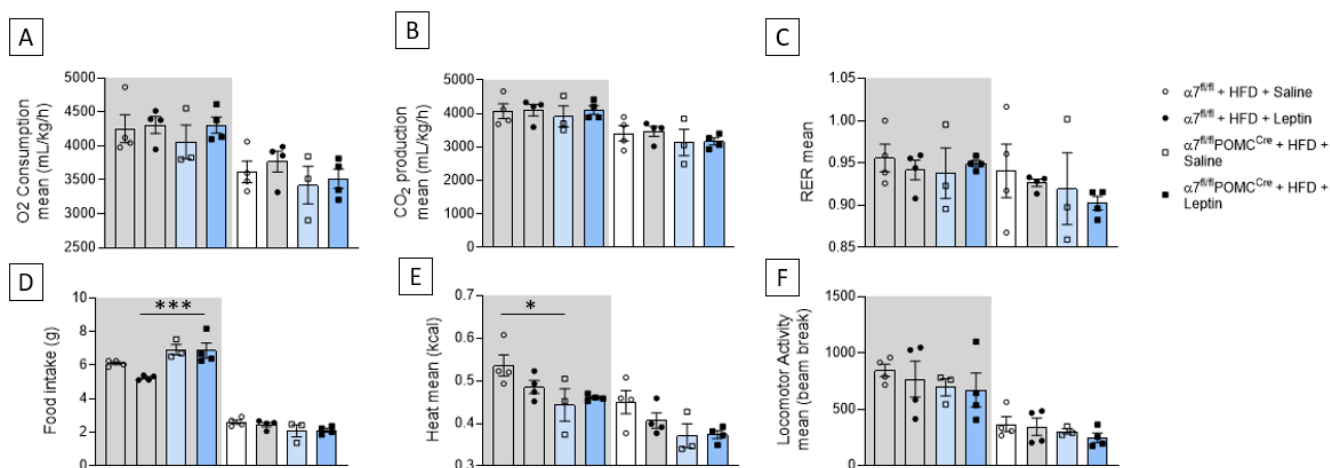
**Figura 2: Evolução, ganho de peso corporal e perda de peso em jejum de camundongos submetidos à dieta hiperlipídica e hipercalórica.** O peso corporal (1A; n= 8-10) foi avaliado semanalmente da 4<sup>o</sup> a 8<sup>o</sup> semana de vida. A porcentagem do ganho de peso corporal (1B; n=8-10) foi determinado ao final da manipulação dietética. Na 8<sup>a</sup> semana, foi determinada perda de peso corporal (1C; n= 8-10) após 12 horas de jejum. Foi aplicado o teste T de *student* não pareado e ANOVA Two-way para a comparação entre grupos. O p nível de significância foi mantido em  $p < 0,05$ . DHH= dieta hiperlipídica e hipercalórica.



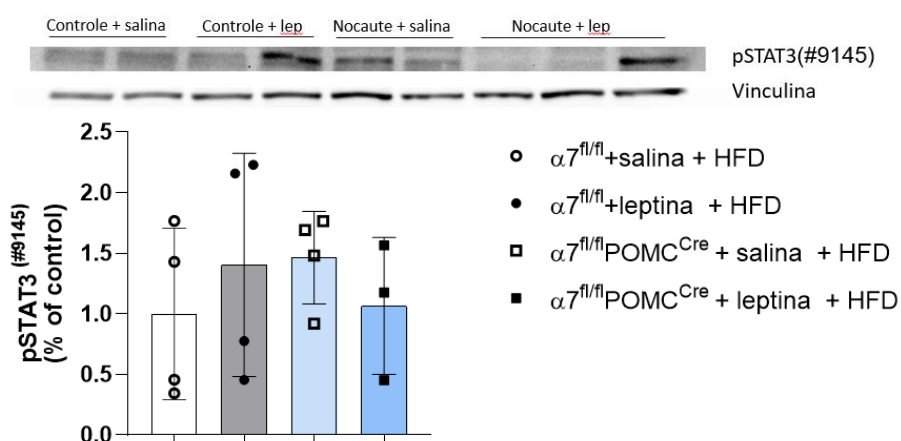
**Figura 3: Peso relativo do tecido adiposo marro (BAT), epigonadal, retroperitoneal, mesentérico, inguinal e tecido adiposo branco total de animais expostos à dieta hiperlipídica e hipercalórica.** Após a eutanásia, o peso do tecido adiposo marrom (3A), tecidos adiposos epigonadal (3B), retroperitoneal(3C), mesentérico(3D) e inguinal (3E) e tecido adiposo branco total(3F) foram mensurados

em balança analítica e normalizados pelo peso corporal (n= 7-11). Teste t de *student* não pareado foi utilizado para comparação entre grupos. O nível de significância foi mantido em  $p < 0,05$ .

### 4.3 A deleção do $\alpha 7nAChR$ parece induzir uma resistência a leptina e uma maior produção de calor sem alterar significativamente o conteúdo de pSTAT3.



**Figura 4: Consumo de O<sub>2</sub>, Produção de CO<sub>2</sub>, Troca Respiratória, Ingestão Alimentar, Produção de calor e Atividade Locomotora.** Na 4ª semana de vida, os animais receberam a DHH durante 4 semanas. Ao final da manipulação dietética, foi realizado o procedimento de calorimetria indireta. Foi realizado um jejum prévio de 24h, então os animais foram estimulados por via intraperitoneal com salina (0,9%) ou leptina (5µg/g de peso) no início do ciclo escuro. Os parâmetros foram coletados durante o ciclo escuro/claro (12h/12). Foi utilizado ANOVA two-way seguido pelo pós-teste de Bonferroni para comparação entre grupos. O nível de significância foi mantido em  $p < 0,05$ .



**Figura 5: Resposta hipotalâmica dos animais submetidos ao estímulo intraperitoneal com leptina.** Os animais foram mantidos em jejum prévio de 12 horas e posteriormente estimulados com leptina (2,5 ug/g de peso) por via intraperitoneal. Os animais foram eutanasiados 30 min após o estímulo, sendo

coletado o hipotálamo. Foram avaliadas a expressão proteica de pSTAT3 (#9145), sendo normalizadas a partir da Vinculina. ANOVA two-way foi aplicada para comparação entre grupos. \* $p < 0,05$ .

## CONCLUSÕES:

A deleção da subunidade alfa 7 do receptor nicotínico colinérgico em neurônios POMC hipotalâmicos juntamente com a intervenção dietética resultou em uma maior perda de peso em jejum e em um aumento de tecido adiposo com destaque no aumento de tecido adiposo inguinal e retroperitoneal, sugerindo uma alteração da composição corporal desses animais. Esses eventos podem estar relacionados com a menor produção de calor dos animais, visto que quanto menor a quantidade de tecido muscular, menor a taxa metabólica basal. Além disso, os animais que receberam estímulo de leptina, não diminuíram a ingestão alimentar podendo significar uma possível resistência a leptina. Por fim, mais experimentos são necessários para avaliar o efeito na sinalização hipotalâmica visto que não houve diferença significativa sobre o conteúdo da pSTAT3, proteína importante na via de sinalização JAK2/STAT3.

## BIBLIOGRAFIA

1. Caballero B. Humans against Obesity: Who Will Win? *Adv Nutr* 2019; 10: S4–S9.
2. Baldini G, Phelan KD. The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. *J Endocrinol* 2019; 241: R1–R33.
3. Souza CM, Do Amaral CL, Souza SC, et al. JAK2/STAT3 pathway is required for  $\alpha 7$ NACHR-dependent expression of POMC and AgRP neuropeptides in Male mice. *Cell Physiol Biochem* 2019; 53: 701–712.
4. Wang P, Loh KH, Wu M, et al. A leptin–BDNF pathway regulating sympathetic innervation of adipose tissue. *Nature* 2020; 583: 839–844.
5. 11. Wilson EA, Sun H, Cui Z, et al. Gq $\alpha$ /G11 $\alpha$  deficiency in dorsomedial hypothalamus leads to obesity resulting from decreased energy expenditure and impaired sympathetic nerve activity. *Am J Physiol - Endocrinol Metab* 2021; 320: E270–E280.
6. Wang H, Yu M, Ochani M, et al. Nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 7$  subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003; 421: 384–388.