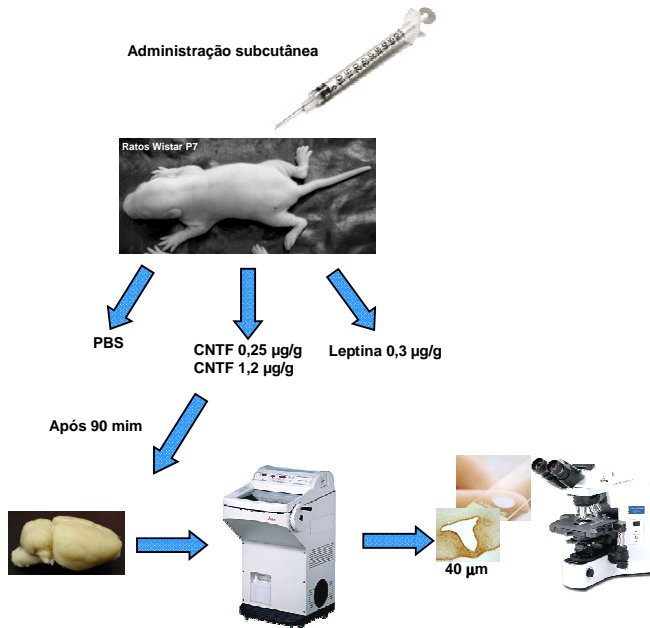


¹Ignarro, R. S. ; ¹Vieira, A. S. ; ¹Rezende, A. C. S. ; ¹Facchini, G. ; ¹Furuzawa, K. M. ; ¹Sartori C. R. ; ^{1,2}Langone, F. ¹Departamento de Fisiologia e Biofísica, UNICAMP. ²In memoriam.

INTRODUÇÃO

Além de sua reconhecida ação neuroprotetora, o fator neurotrófico ciliar (CNTF) tem a capacidade de atuar sobre o metabolismo energético (1, 2, 10,11). Esta propriedade do CNTF tem atraído grande interesse em virtude da similaridade de seus efeitos com aqueles produzidos pelo hormônio leptina sobre o comportamento alimentar e a manutenção do peso corpóreo (15). As vias de sinalização do CNTF e da leptina apresentam muitas semelhanças e podem ser resumidas do seguinte modo: a interação destas substâncias com seus receptores ocasiona a ativação de proteínas da família das Janus-Tirosina-Quinases (JAK/TYK), que por sua vez permitem o recrutamento e a ativação de fatores da família das proteínas transdutoras de sinais e ativadoras da transcrição (STATs), especialmente a STAT3 (7). Em camundongos obesos da linhagem ob/ob, que não produzem a forma funcional da leptina, bem como em camundongos da linhagem db/db, cujo receptor para a leptina não é funcional, o tratamento com CNTF é capaz de induzir perda de massa corpórea (5). Recentemente, verificou-se que o CNTF também é capaz de atuar sobre os mecanismos responsáveis pela termogênese dependente do metabolismo da gordura marrom (GM) (2,8). A aplicação subcutânea de CNTF e leptina em roedores adultos ocasiona um aumento da expressão da proteína desacopladora mitocondrial UCP1 na GM (2). Contudo, ainda não se conhece o mecanismo pelo qual o CNTF aumenta a expressão da UCP1 nesse tecido. Quanto à leptina, sabe-se que sua capacidade de aumentar a expressão gênica da UCP1 é dependente de inervação simpática da gordura marrom (9). Resultados obtidos em nosso laboratório mostraram que o tratamento subcutâneo de leptina e CNTF causou significativa redução do ganho de peso de animais neonatos, bem como diminuição da expressão da proteína UCP1 no tecido adiposo marrom destes animais. Sendo assim, acreditamos que a análise da ativação do fator de transcrição STAT3 no cérebro destes animais ajudará na investigação acerca da existência de um possível efeito central do CNTF e da leptina e das regiões cerebrais que possivelmente estariam ativadas. Adicionalmente, uma vez que os estudos acerca da maturação dos sistemas reguladores da alimentação e do peso corporal em ratos neonatos são raros, o estudo da ativação da STAT3 no cérebro destes animais poderá auxiliar na identificação das regiões cerebrais que possivelmente estejam maduras e responsivas ao CNTF e leptina.

MATERIAIS E MÉTODOS



RESULTADOS

Efeito dos tratamentos sobre o crescimento dos animais

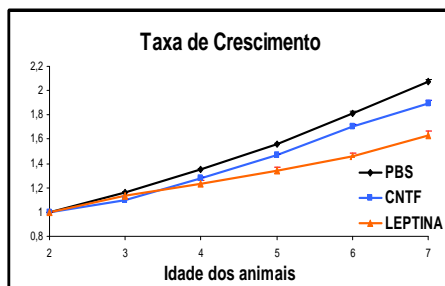


Figura 1. O acompanhamento do crescimento dos animais entre P2 e P7 mostrou que os ratos tratados subcutaneamente com CNTF tiveram um ganho de peso significativamente maior que os tratados com leptina e menor que os animais do grupo controle (PBS). O crescimento dos animais do grupo CNTF começou a apresentar diferença significativa em relação ao grupo controle na idade P4 (p<0,01). Tal diferença se manteve até a idade P6 e aumentou na idade P7 (p<0,001). Por sua vez, os animais do grupo tratado com leptina também exibiram menor crescimento corporal a partir da idade P4, quando comparados ao grupo controle (p<0,001), além disso, a partir da idade de P5, o peso corporal dos animais tratados com leptina foi significativamente inferior ao dos animais tratados com CNTF (p<0,001). Análise estatística: ANOVA seguida do teste de Student-Newman-Keuls.

Imunohistoquímica para pSTAT3

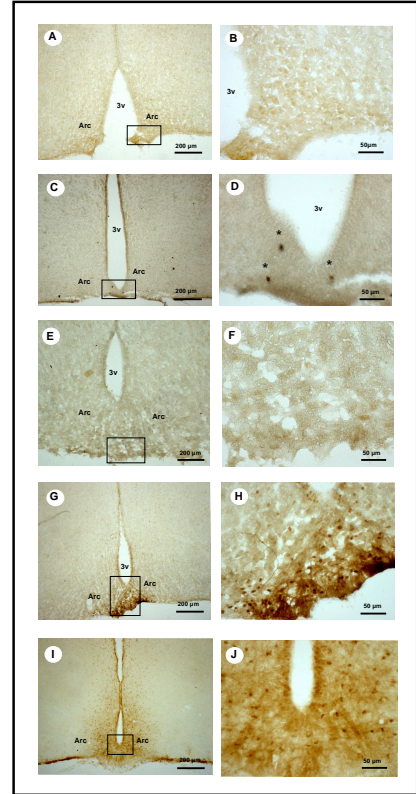


Figura 2. Imunohistoquímica para pSTAT3 no hipotálamo de ratos neonatos (P7) submetidos a tratamento agudo s.c. com PBS (A e B), CNTF (0,25 µg/g; C e D e 1,2 µg/g G e H) ou Leptina (0,3 µg/g; E e F) e sacrificados 90 min após a administração. A e B: observar alguns pontos de coloração marrom pouco intensa que provavelmente correspondem à marcação basal de pSTAT3. C, D, E, F: não foram evidenciadas imunorreatividade das células hipotalâmicas. G e H: observar a grande quantidade de células marcadas (coloração marrom escuro) no núcleo arqueado do hipotálamo. As figuras I e J são um corte de rato adulto que foi submetido à injeção i.c.v. de CNTF e utilizado como controle positivo para o procedimento de imunohistoquímica. Observe a grande quantidade de células positivas para pSTAT3 ao redor do terceiro ventrículo (coloração marrom escuro). 3v: terceiro ventrículo; Arc: núcleo arqueado do hipotálamo; * precipitação inespecífica de DAB.

CONCLUSÕES E HIPÓTESES

- O CNTF, bem como a leptina, desempenham suas funções através da ação no sistema nervoso central, mais especificamente no hipotálamo tanto em animais adultos (3, 13) como em neonatos (4).
- No entanto, este mecanismo de ação não é indispensável para que estas substâncias possam exercer seus efeitos sobre o crescimento e tecido adiposo marrom, como evidenciado através do tratamento crônico por 5 dias com CNTF (0,25 µg/g) e leptina (0,30 µg/g).
- Como ocorre em roedores adultos, o CNTF pode estar atuando também diretamente em tecidos periféricos, como o músculo esquelético (14) e os tecidos adiposos branco e marrom (8,17).
- A leptina provavelmente desempenhou uma ação sistêmica, hipótese corroborada pela ampla distribuição de seu receptor, abrangendo vários tecidos, como fígado, coração, intestino delgado, estômago, baço, tecido adiposo (12).
- Podem também ter atuado via núcleo do trato solitário, potencializando o efeito da distensão gástrica e causando redução da ingestão alimentar (6, 16).

RESUMO

O Fator Neurotrófico Ciliar (CNTF) é um peptídeo com reconhecida ação neuroprotetora sobre motoneurônios. Porém, testes clínicos em humanos portadores de esclerose lateral amiotrófica revelaram efeitos colaterais importantes, como anorexia e perda de peso. Deste modo, a investigação da sua capacidade em reduzir a massa corpórea permitiu seu estudo como possível agente no tratamento da obesidade, da mesma forma que o hormônio Leptina (LEP). Nesse sentido, sabe-se que o CNTF e a LEP estimulam a utilização de energia e a oxidação de lipídios por aumentar a capacidade termogênica, através do aumento da expressão da proteína desacopladora mitocondrial, a UCP1 em animais adultos. As vias de sinalização do CNTF e da LEP consistem na interação destas substâncias com seus receptores, ativação de proteínas da família das Janus-Tirosina Quinases, recrutamento e ativação de fatores da família das proteínas transdutoras de sinais e ativadoras da transcrição (STATs). Dados anteriores do laboratório mostraram que o tratamento subcutâneo com CNTF (0,25 µg/g) e LEP (0,30 µg/g) causou significativa redução do ganho de peso e da expressão da UCP1 no tecido adiposo marrom dos ratos neonatos. Neste contexto, o presente projeto teve como objetivo detectar a presença e localização de neurônios que expressam pSTAT3 (STAT3 fosforilada) no cérebro em ratos neonatos após tratamento agudo com CNTF (0,25 µg/g) ou LEP (0,30 µg/g) (s.c.). Nossos resultados mostraram, através de imunohistoquímica para pSTAT3, que não houve ativação de células hipotalâmicas nos animais tratados com estas doses de CNTF ou LEP, mostrando que os efeitos observados anteriormente se devem a ações periféricas e não centrais. Interessantemente, vimos também que a ativação de células hipotalâmicas em ratos neonatos tratados com CNTF (1,2µg/g) ocorre, ao menos em P7 (sete dias de vida), e é portanto, dose-dependente; sendo as células responsivas encontradas no núcleo arqueado do hipotálamo. Dados recentes da literatura também mostraram que a ativação de células em camundongos neonatos tratados com Leptina (3µg/g) ocorre abundantemente a partir de P5 e atinge muitos outros núcleos hipotalâmicos, além do arqueado. Ou seja, o efeito central da Leptina também parece ser dose-dependente, de forma análoga ao CNTF. Sendo assim, concluímos que embora exista uma ação direta no SNC tanto do CNTF quanto da Leptina, esta ação não é indispensável para que suas ações fisiológicas sejam efetivas. Isto deve ocorrer provavelmente porque estas duas substâncias podem atuar também diretamente em tecidos periféricos.

REFERÊNCIAS

1. CALDES, L. AND C.A. BARTSCH. 1995. Characterization of neurotrophic factor-mediated distribution of adult hippocampal cells in culture systems. *Science* 269:1456-1460. 1973. 2. BILKES, S., MOGENSEN, S., BILLEN, J., CLOUTIER, L., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 3. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 4. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 5. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 6. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 7. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 8. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 9. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 10. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 11. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 12. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 13. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 14. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050. 15. DEZIER, L., MOGENSEN, S., BILLEN, J., AND B. DEZIER. 1999. Molecular dissection of the leptin receptor: identification of a novel receptor for leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1045-1050.