

OBESIDADE MATERNA REDUZ A EXPRESSÃO DA D3 NO CÉREBRO DOS FILHOTES***MATERNAL OBESITY REDUCES THE EXPRESSION OF D3 IN THE BRAIN OF THE OPFFSPRING***

Cyntia Moraes Teixeira
Renata Nassif Jorge
Roberta Monterazzo Cysneiros
Miriam Oliveira Ribeiro

**Universidade Presbiteriana Mackenzie
UNIFESP**

Sobre os autores**Cyntia Moraes Teixeira**

Aluna egressa do Programa de Pós-graduação em Distúrbios do Desenvolvimento, Universidade Presbiteriana Mackenzie
cymoteix@gmail.com

Renata Nassif Jorge

UNIFESP
re.nassif@uol.com.br

Roberta Monterazzo Cysneiros

Programa de Pós-graduação em Distúrbios do Desenvolvimento, Universidade Presbiteriana Mackenzie.
rcysneiros@yahoo.com

Miriam Oliveira Ribeiro

Programa de Pós-graduação em Distúrbios do Desenvolvimento, Universidade Presbiteriana Mackenzie.
miriamribeiro@mackenzie.br

RESUMO

A obesidade é fator de risco para o desenvolvimento de hipertensão arterial, dislipidemia, hiperglicemia, diabetes tipo 2 e esteatose hepática. O aumento de obesidade em gestantes além de aumentar o risco do desenvolvimento de doenças cardiovasculares, também pode estar relacionado com anomalias no desenvolvimento do Sistema Nervoso Central dos embriões como, por exemplo, redução dos potenciais de longa duração (LTP) e da neurogênese no hipocampo. É possível que os níveis reduzidos de BDNF observados nestes embriões, estejam envolvidos com o prejuízo nos processos de aprendizado e memória exibidos por esses animais. Estudos também mostram que o BDNF se encontra reduzidos em fetos de mães com hipotireoidismo subclínico materno. Estes filhotes apresentam piora no desenvolvimento neurológico, demonstrando déficits na memória de longo e de curto prazo. O presente estudo contemplou a possibilidade de que durante a obesidade materna, ocorram alterações na expressão da enzima desiodase do tipo III (D3) no cérebro dos filhotes, com consequente mudança nos níveis locais de T3. Os nossos resultados mostraram que há redução na expressão da D3 nos dias 07 e 16 de vida pós-natal dos filhotes de mães obesas. Assim, é possível que o hormônio tireoideano esteja envolvido nas alterações neurofisiológicas de filhotes de ratas obesas.

Palavras-chave: Obesidade Materna, Desiodase, Obesidade Infantil, BDNF, Hipotireoidismo.

ABSTRACT

Obesity is a risk factor for the development of hypertension, dyslipidemia, hyperglycemia, type 2 diabetes and hepatic steatosis. The increase in obesity during pregnancy increases the risk for cardiovascular diseases and may be related to abnormalities in the developing of Central Nervous System of the embryos, such as reduction in long-term potentiation (LTP) and in the

hippocampal neurogenesis. It is possible that the reduced levels of BDNF observed in these embryos are involved in the learning and memory impairment observed in these animals. Studies also show that BDNF is reduced in fetuses of mothers with maternal subclinical hypothyroidism. Their offspring have worsening neurological development, with deficits in long and short-term memory. This study contemplated the possibility that maternal obesity changes the expression of the enzyme deiodinase type III (D3) in the brain of offspring with consequent change in the local levels of T3. Our results showed that there is a reduction in the expression of D3 in 07 postnatal day of life of the offspring from obese mothers. Thus, it is possible that thyroid hormone is involved in neurophysiological dysfunction observed in offspring of obese rats.

Keywords: Maternal Obesity, Deiodinase, Childhood Obesity, BDNF, Hypothyroidism.

1 - INTRODUÇÃO

A obesidade pode ser definida como um distúrbio multifatorial, caracterizado pela deposição excessiva de gordura nos tecidos e está diretamente relacionada ao desenvolvimento da Síndrome Metabólica (SM) (MORAES, 2011). A SM inclui diversas anormalidades tais como, hipertrigliceridemia, diminuição nos níveis séricos da lipoproteína de alta densidade (HDL), hipertensão arterial, hiperglicemia de jejum e resistência à insulina, que são fatores de risco para o desenvolvimento de distúrbios cardiovasculares, diabetes tipo II e câncer (ALBERTI, ZIMMET & SHAW, 2005; YAMADA-GOTO, KATSUURA, OCHI, EBIHARA, KUSAKABE, HOSODA, & NAKAO, 2012).

Também parece interferir com processos de aprendizado e memória. Animais alimentados com dieta rica em gordura (HFD) apresentam aprendizagem hipocampo-dependentes prejudicada, baixos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo e neurogênese reduzida em comparação com os animais alimentados com dieta normal (MOLTENI, BARNARD, YING, ROBERTS, & GÓMEZ-PINILLA, 2002; LINDQVIST, MOHAPEL, BOUTER, FRIELINGS DORF, PIZZO, BRUNDIN, & ERLANSON-

ALBERTSSON, 2006; STRANAHAN, NORMAN, LEE, CUTLER, TELLJOHANN, EGAN, & MATTSON, 2008). O BDNF desempenha um papel importante na sobrevivência, manutenção e diferenciação de muitos tipos de neurônios e é abundantemente expresso no hipocampo. Evidências sugerem que reduções nos níveis de BDNF interferem com potenciais de longa duração (LTP) e com neurogênese no hipocampo (BINDER & SCHARFMAN, 2004; SHORS, MIESEGAES, BEYLIN, ZHAO, RYDEL, & GOULD, 2001.; DUPRET, REVEST, KOEHL, ICHAS, DE GIORGI, COSTET, ABROUS, & PIAZZA, 2008; FARIOLI-VECCHIOLI, SARAULLI, COSTANZI, PACIONI, CINÀ, ACETI, MICHELI, BACCI, CESTARI, & TIRONE, 2008).

O aumento dos casos de obesidade entre gestantes constitui um novo foco para o desenvolvimento de políticas de saúde, pois a obesidade gestacional configura riscos a saúde da gestante ao desencadear doenças como diabetes gestacional, a pré-eclampsia e, conseqüentemente, o aumento de cesarianas e nascimento de prematuros (FAZIO, 2010). Além disso, a obesidade gestacional pode estar relacionada com o aumento das taxas de anomalias congênitas e natimortalidade do feto (MORAES, 2011).

A obesidade materna pode também modular a formação de circuitos neurais, interferindo diretamente no desenvolvimento do Sistema Nervoso Central do embrião (WRIGHT, EVANS & VOIGT, 2011). Estudos recentes têm relatado que filhos de mães obesas mostram anormalidades no desenvolvimento do circuito neural e redução na produção do BDNF no hipocampo, assim como pior desempenho em tarefas que envolvem memória e aprendizado (TOZUKA, KUMON, WADA, ONODERA, MOCHIZUKI, & WADA, 2010).

Os hormônios tireoideanos produzidos pela mãe durante a gravidez, especialmente tiroxina (T4), são cruciais para o desenvolvimento do cérebro no início da fase embrionária de mamífero. Estudos epidemiológicos e relatos de caso têm mostrado que o hipotireoidismo subclínico materno pode resultar em efeitos negativos significativos na gravidez e no desenvolvimento neurológico do feto (HADDOW, PALOMAKI, ALLAN, WILLIAMS, KNIGHT, GAGNON, O'HEIR, MITCHELL, HERMOS, WAISBREN, FAIX, & KLEIN, 1999; DE ESCOBAR, OBREGÓN, & DEL REY, 2004). Filhotes de ratas com hipotireoidismo subclínico mostram déficits na memória de longo e de curto prazo (LIU, TENG, SHAN, YU, GAO, WANG, FAN, WANG, & ZHANG, 2010). Além disso, esses animais também apresentam níveis reduzidos de BDNF no hipocampo assim como a expressão de RNAm para o gene do BDNF, o que pode explicar o déficit de aprendizado observado nestes animais (SUI & REN, 2010; SUI & LI, 2010).

O principal produto da glândula tiróide é o T4. No entanto, o T3 é a forma biologicamente ativa que se liga ao seu receptor, fazendo do T4 apenas um pró-hormônio (BIANCO & MAIA, 2005). Menos de 20% do total de T3 circulante é oriundo da secreção direta pela glândula (BIANCO & KIM, 2006) sendo a maior parte derivada da desiodação do anel externo da molécula de T4 nos tecidos por ação de enzimas chamadas desiodases (BIANCO & KIM, 2006).

A desiodação do hormônio tireoideano é dependente das desiodases do tipo I, II e III (D1, D2, D3, respectivamente). Essas três enzimas constituem um grupo de proteínas que podem ativar ou inativar o hormônio da tireóide. D1 e D2 agem ativando o pró-hormônio T4 em T3. A D1 é considerada cineticamente menos eficiente quando comparada à D2 e sua importância fisiológica ainda não está muito clara, uma vez que animais com nocaute para esta enzima apresentam um fenótipo normal. Este mesmo estudo sugere que a D1 seja relevante na depuração plasmática das iodotironinas e na recaptção do iodo (SCHNEIDER, FIERING, THAI, WU, ST GERMAIN, PARLOW, ST GERMAIN, & GALTON, 2006). A D2 é encontrada na tireóide, cérebro, hipófise anterior, gordura marrom, coração, músculo esquelético e placenta e parece ser a principal responsável pelo T3 circulante, assim como pelo aporte do T3 nas células (BIANCO & KIM, 2006). Em contraste, a desiodase tipo III (D3) previne a ativação do T4, convertendo-o em T3 reverso (rT3) e transformando T3 em T2, que são consideradas formas inativas do hormônio, o que confere à D3 o papel único de causar hipotireoidismo local, ou seja, apenas em alguns tecidos específicos. A D3 pode ser encontrada no cérebro, pele, intestino, útero e placenta. Embora seja expressa em poucos tecidos na vida pós-natal, é vastamente observada em pacientes criticamente doentes, durante inflamação crônica e em hipóxia e sua atividade está associada à redução de T3 sistêmico (BURROW, 1994; SIMONIDES, MULCAHEY, REDOUT, MULLER, ZUIDWIJK, VISSER, WASSEN, CRESCENZI, DA-SILVA, HARNEY, ENGEL, OBREGON, LARSEN, BIANCO, & HUANG, 2008).

A ingestão prolongada de HFD induz à hiperativação do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide (HPT), caracterizada por elevações do TRH hipotalâmico, aumento na captação de iodeto pela tireóide e aumento dos níveis plasmáticos de TSH. No entanto, os níveis de T3 e T4 permanecem normais nesses indivíduos

sugerindo que a HFD induz a alterações na atividade das desiodases. De fato, a atividade da desiodase do tipo 1 no fígado encontra-se aumentada no fígado e no rim desses animais. Além disso, observa-se aumento nos níveis de rT3 plasmáticos, sugerindo que a ativação do eixo HPT leve também ao aumento na atividade da atividade da D3 (ARAUJO, ANDRADE, PADRÓN, GAIDHU, PERRY, CARVALHO, & CEDDIA, 2010).

A hipótese deste trabalho contemplou a possibilidade de que os prejuízos nos processos de aprendizado e memória dos filhotes nascidos de mães obesas sejam decorrentes de alteração na expressão da enzima desiodase do tipo III no cérebro dos filhotes, com consequente mudança nos níveis de T3 e na expressão do BDNF.

2. MÉTODO

Foram utilizadas 10 ratas fêmeas Wistar, com 2 meses de vida alojadas em gaiolas de plástico e submetidas a um ciclo 12h claro/escuro, na temperatura de 22°C e acesso ad libitum à água e comida divididas nos seguintes grupos:

Controle (n=5): Ratas grávidas alimentadas com ração padrão

Experimental (n=5): Ratas alimentadas com dieta rica em gordura (40%) por 25 dias para o desenvolvimento da obesidade. Após esse período as ratas foram expostas a ratos machos para o acasalamento. As ratas foram acomodadas em gaiolas individuais com apenas 8 filhotes no máximo. Os filhotes excedentes foram mortos por excesso de anestésico injetável (uretana).

Quantificação da D3 por Western blot: Aos 7, 10 e 16 dias de idade, 2 filhotes de ambos os

sexos de cada fêmea foram anestesiados com Uretana (1200 mg/kg) e o cérebro foi removido e imediatamente congelado para a quantificação da desiodase do tipo 3 por Western blotting

Western blot: 20 mg de proteínas do cérebro total foram submetidas à corrida eletroforética em gel de poli(acrilamida) para separação, de acordo com o peso molecular, sem perda de unidades protéicas. O processo envolveu um sistema descontínuo de dois géis contíguos com concentrações diferentes: o primeiro gel, o gel de resolução [stacking gel – 5% (acrilamida 5%; bisacrilamida 0,5%; stacking buffer – TRIS Buffer 0,125 M; SDS 1% pH 6,8; Temed 0,025% e persulfato de amônio 0,025%)] e o segundo gel, o gel de separação [running gel –10% (acrilamida 30%; bisacrilamida 0,8%; running buffer – TRIS Base 0,375 M pH 8,8; SDS 0,1%; Temed 0,025% e persulfato de amônia 0,025%)] onde as proteínas foram separadas de acordo com seus pesos moleculares. As amostras foram solubilizadas em tampão contendo SDS 2%; glicerol 10% TRIS Base 0,0625 M pH 6,8; bromofenol blue 0,001% e 2-mercaptoetanol 5%. O tampão de corrida utilizado consiste de TRIS Base 0,025M; glicina 0,192M e SDS 0,1%. Paralelamente às proteínas mitocondriais, correu-se um marcador de peso molecular. A 5D3, de 31 kD, foi localizada, utilizando-se como referência a proteína anidrase carbônica de 30 kD. As amostras foram então transferidas eletroforéticamente para uma membrana de nitrocelulose (Immobilon, Millipore Co, Bedford MA), usando tampão de transferência (Tris base 0,17M, glicina 0,17M, metanol a15%, pH 8,3). A membrana foi incubada overnight com tampão Tris e solução bloqueadora 0,5 %, contendo anti-UCP1 na proporção de 1:1000 (Calbiochem, San Diego CA) e processada, usando-se um kit comercial de quimioluminescência para western blot (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis IN), de acordo com as instruções do

fabricante. A intensidade do sinal foi medida por densitometria, usando-se um programa de imagem NIH (Scientific Computing Resource Center).

Determinação dos níveis de BDNF no cérebro: Aos 7, 10 e 16 dias de vida, 2 filhotes de ambos os sexos de cada fêmea foram anestesiados com uretana (1200mg/Kg) para remoção do cérebro inteiro que foi imediatamente congelado. A homogeneização do tecido foi preparada com tampão (pH 7,0) e centrifugada para a realização do imunoenensaio.

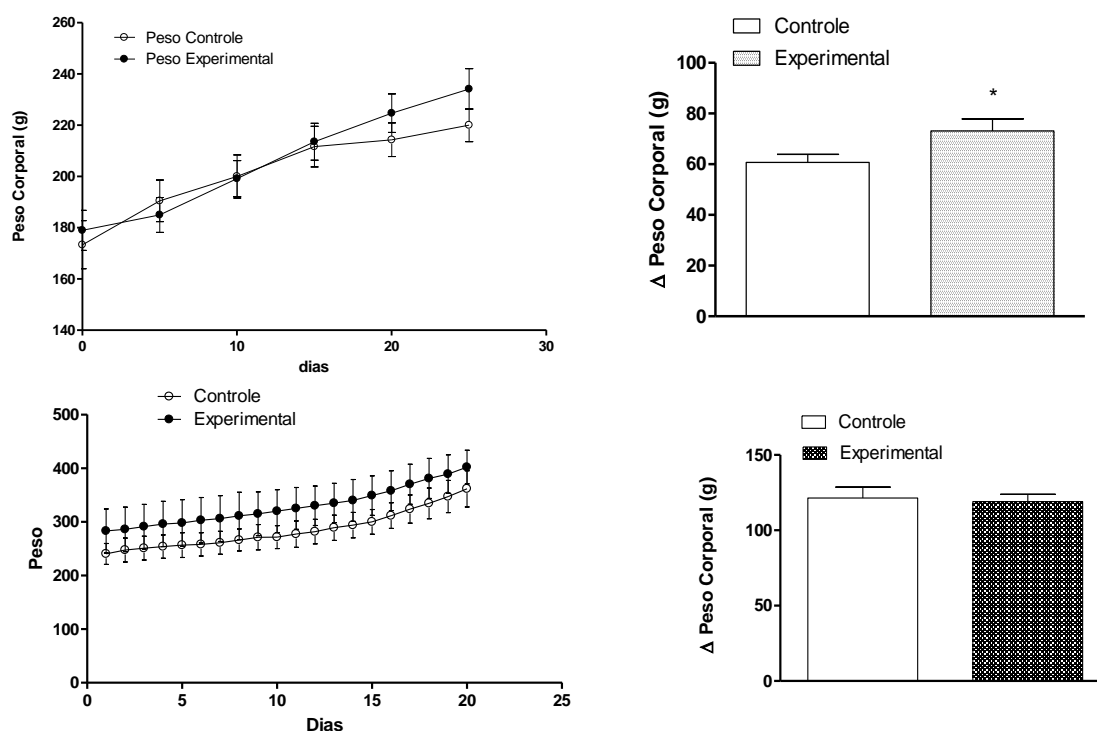
Procedimento de imunoenensaio: O imunoenensaio foi realizado de acordo com a tecnologia Multiplex, utilizando-se kit comercial Milliplex map, baseada na tecnologia Luminex® x MAP®, que utiliza código interno de cores em microesferas com dois corantes fluorescentes. Através de concentrações precisas destes corantes, 100 conjuntos de esferas coloridas distintas podem ser criados, cada uma das quais é revestida com um anticorpo de captura. Após o analito da amostra ser capturado pelo grânulo, um anticorpo biotinilado de detecção é introduzido. A mistura de reacção é, em seguida, incubada com estreptavidina-PE conjugado, a molécula repórter, para completar a reacção na superfície de cada microesfera. As microesferas passam através de um laser, que excita os corantes internos que marcam o conjunto de microsferas. Um segundo laser excita PE, o corante fluorescente na molécula repórter. Finalmente, um processador digital de alta velocidade identifica cada microesfera individualmente e quantifica o resultado do sua bioensaio com base nos sinais fluorescentes repórteres.

Análise estatística: A significância estatística da diferença entre os valores médios dos grupos foi testada pela Anova One-way, seguido do teste Student-Newman-Keuls para detectar diferenças entre os grupos. Para todos os testes $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Todos os resultados foram expressos como média \pm SEM.

3. RESULTADOS

No presente estudo nós avaliamos o efeito da obesidade materna sobre a expressão da D3 e dos níveis de BDNF no cérebro dos filhotes. Para tanto, induzimos a obesidade em ratas fêmeas por meio do tratamento com dieta rica em gordura (40%) por 25 dias antes do acasalamento. Como podemos ver nas Figuras 1 A e B, as fêmeas tratadas com dieta rica em gordura engordaram significativamente mais do que as fêmeas do grupo controle no período que antecedeu a fecundação. O aumento de peso nas ratas obesas não foi diferente do aumento do peso observado nas ratas controles, ou seja, a dieta rica em gordura não levou a maior ganho de peso durante a gestação (Fig. 1C e D).

Figura 1. (A) Peso corporal das ratas controle e tratadas com dieta rica em gordura (40%) antes do acasalamento. (B) Variação do peso corporal das ratas controle e tratadas com dieta rica em gordura (40%) antes do acasalamento. (C) Peso corporal das ratas controle e tratadas com dieta rica em gordura (40%) durante a gestação. (D) Variação do peso corporal das ratas controle e tratadas com dieta rica em gordura (40%) ao longo da gestação. Os valores estão expressos como média±EP. * vs. Controle com $p>0.05$



É intrigante o fato das ratas alimentadas com dieta rica em gordura apresentarem, ao final da gestação, um consumo maior de comida do que as ratas alimentadas com dieta padrão (Figura 2). Esse resultado pode ser explicado por um possível aumento na secreção de leptina, uma adipocina que age ativando o centro da saciedade. A obesidade está associada com o aumento da concentração de leptina circulante acompanhada de perda de capacidade de sinalização para os centros de saciedade como resultado de resistência central à leptina (HAMED, ZAKARY, AHMED, & GAMAL, 2011). A hiperleptinemia em ratas grávidas parece constituir um mecanismo compensatório para atender a demanda energética do feto (BRUNTON & RUSSEL, 2008). Os níveis de

leptina materna são ainda maiores durante a gravidez em gestantes com sobrepeso / obesidade ($IMC > 26 \text{ kg/m}^2$) em comparação com as mulheres grávidas não obesas ($IMC < 26 \text{ kg/m}^2$) (MISRA & TRUDEAU, 2011), o que explica o aumento no apetite das ratas obesas durante a gravidez.

Seria de se esperar que esse aumento no consumo de ração hipercalórica resultasse em maior ganho de peso corporal, mas isso não foi observado. A alteração do peso corporal se deve a variações na quantidade de massa magra, massa gorda e água contida no corpo dos animais (AMORIM, UETA, FREITAS, NASSIF, AOKI, GOUVEIA, CHRISTOFFOLETE, MORISCOT, LLIMONA, BRABEIRO, POSSOLO,

CATANOZI, PASSARELLI, BIANCO, & RIBEIRO, 2009). Assim, é possível que a quantidade de massa gorda nas ratas alimentadas com HFD seja maior do que nas

ratas alimentadas com dieta padrão sem que se observe alteração no peso dos animais.

Figura 2. Consumo de ração das ratas controle e alimentadas com dieta rica em gordura (40%) ao longo da gestação. Os valores estão expressos como média±EP. * vs. Controle com $p < 0.0001$.

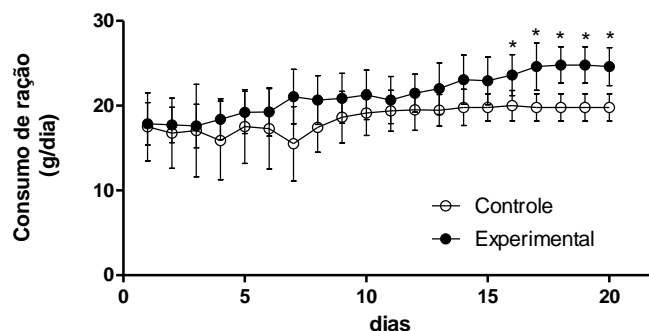
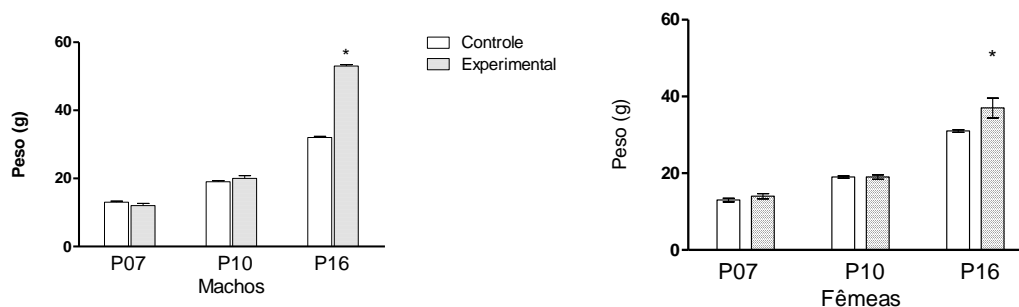


Figura 3. Peso corporal dos filhotes machos (A) e fêmeas (B) das mães controle e mães obesas aos 7, 10 e 16 dias de vida pós-natal. Os valores estão expressos como média±EP. * vs. P16 Controle com $p < 0.001$.

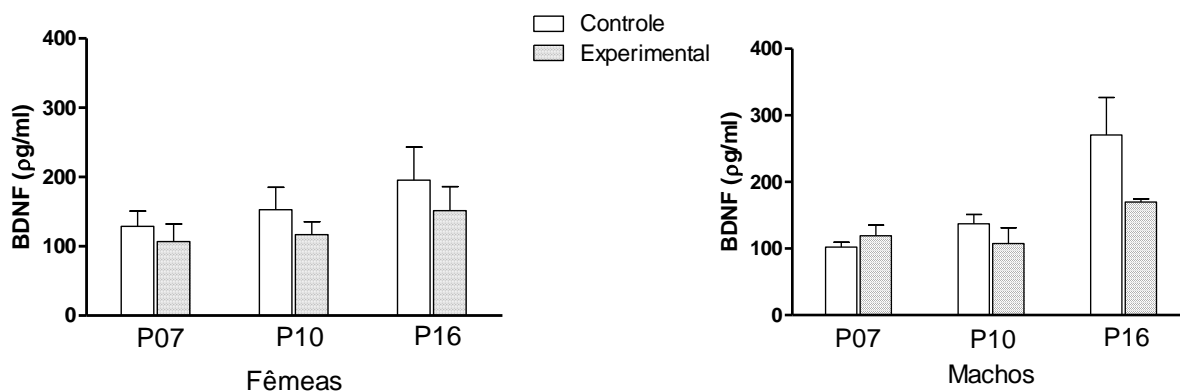


Como podemos observar na Figura 3, os filhotes de mães obesas não apresentam aumento no peso corporal a não ser no 16º dia de vida., antes e após a intervenção.

Em três ninhadas de ratas obesas ocorreu morte de neonatos, mas não nas ninhadas das mães controles. Uma das alterações no cérebro de animais obesos descritas na literatura é a menor expressão de BDNF. Assim, nós nos perguntamos se a obesidade materna poderia influenciar os níveis desse fator de crescimento

nos seus filhotes. Para tanto, nós medimos o BDNF no cérebro dos filhotes nos dia 07, 10 e 16 de vida pós-natal. Como podemos observar na Figura 4, os filhotes machos de mães obesas apresentam tendência de diminuição nos níveis de BDNF aos 16 dias de vida quando comparados aos seus controles, mas sem significância estatística. Já nos filhotes do sexo feminino de mães obesas houve uma leve tendência de redução em todos os dias estudados, também sem significância estatística.

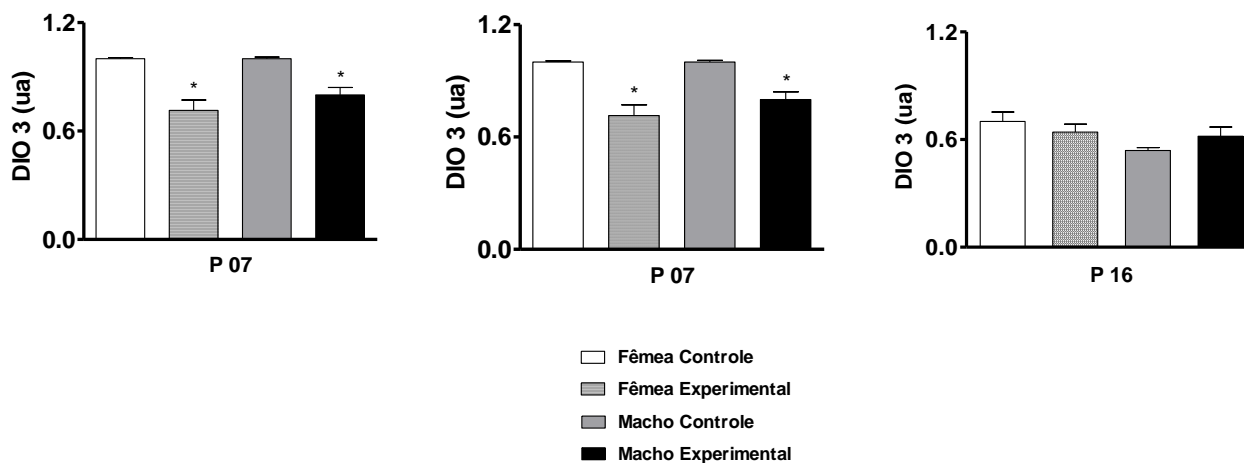
Figura 4. Medida da concentração de BDNF em homogenato de cérebro de filhotes machos e fêmeas de mães controle e obesas aos 07, 10 e 16 dias de vida pós-natal. Os valores estão expressos como média±EP.



A principal pergunta do presente estudo foi se os níveis de D3 estariam alterados em filhotes de mães obesas. Assim, medimos por *Western blot* a expressão dessa enzima no cérebro dos filhotes a fim de tentar responder a essa questão.

Como podemos observar na Figura 5, existe uma queda na expressão da D3 apenas nos filhotes fêmeas de mães obesas aos 07 dias de vida pós-natal. Nossos dados sugerem que a obesidade materna leva a diminuição na expressão da D3, com consequente redução das quantidades locais de T3 disponíveis no cérebro.

Figura 5. Medida da expressão de D3 por western blot de homogenato de cérebro de filhotes de mães controle e obesas aos 07, 10 e 16 dias de vida pós-natal. * vs. Controles com $p < 0.01$. Os valores estão expressos como média±EP..



4. DISCUSSÃO

A obesidade está relacionada com diversas alterações sistêmicas que são chamadas em conjunto de Síndrome Metabólica (SM). A SM é caracterizada por adiposidade central, hiperglicemia, dislipidemia, diabetes tipo 2 e esteatose hepática.

Recentemente a obesidade materna tem sido relacionada com alterações neurofisiológicas que resultam em prejuízos nas funções cognitivas e de memória da criança (WRIGHT, EVANS & VOIGT, 2011). De fato, filhotes de ratas obesas mostram anormalidades no desenvolvimento do circuito neural principalmente em hipocampo (TOZUKA, KUMON, WADA, ONODERA, MOCHIZUKI, & WADA, 2009).

Um fator muito importante no desenvolvimento do SNC é o hormônio tiroideano. Sua disponibilidade local é regulada pelas enzimas desiodases que são capazes de ativar o T4 em T3 ou inativar o T4 em r T3 e o T3 a T2. No presente estudo nós avaliamos a expressão da enzima desiodase do tipo 3, D3, no cérebro de filhotes de mães obesas em diferentes idades de vida pós natal a fim de determinar a condição de obesidade materna leva a flutuações no níveis locais de T3 que poderiam estar envolvidas nas alterações dos circuitos cerebrais.

Ao contrário do que esperávamos, houve redução na expressão da D3 no cérebro aos 07 dias de vida pós-natal, o que pode ser responsável pela menor inativação do T4 a rT3. É possível que o aumento do T3 local durante fases críticas do desenvolvimento do SNC esteja envolvido nas alterações observadas nos circuitos neurais do hipocampo de filhotes de mães obesas.

Sabe-se que os níveis de T3 ao longo do desenvolvimento do SNC apresenta flutuações justamente por consequência da regulação das atividades das desiodases do tipo 2 e 3. Se a obesidade materna altera a expressão da D3,

então também teremos mudanças nos níveis locais de T3, podendo resultar em modificações neurofisiológicas importantes. No entanto, não podemos descartar um possível envolvimento da D2. A expressão ou atividade dessa enzima não foi avaliada no presente estudo. Se nos animais estudados houve diminuição concomitante na atividade da D2, os níveis de T3 estariam normalizados, uma vez que a D2 ativa o T4 em T3. Assim, mais experimentos precisam ser realizados para confirmar esses dados.

Nos dias 10 e 16 de vida pós-natal não foram encontradas diferenças significativas na expressão da D3. Sabe-se que nas fases mais tardias do desenvolvimento do SNC, a expressão da D3 cai significativamente e sua importância nessa fase diminui. Talvez por isso não tenhamos detectado alterações na expressão dessa enzima

No modelo estudado não conseguimos mostrar alterações significativas nos níveis de BDNF no cérebro dos filhotes de ratas obesas, apesar de haver clara tendência de queda tanto em filhotes fêmeas quanto em machos em todos os dias de vida estudados. Talvez a obesidade induzida no nosso modelo não tenha sido suficiente para levar à alterações mensuráveis nos níveis de BDNF. Ou ainda, a metodologia empregada, medida da expressão da D3 por Western blot em homogenato do cérebro inteiro, não seja refinada o suficiente para detectar as variações induzidas pela obesidade. Além disso, a análise no cérebro inteiro e não em regiões específicas como o hipocampo, também podem prejudicar a análise dos resultados.

É necessário que outros experimentos sejam feitos em ratas com obesidade mais severa e por mais tempo antes do acasalamento. De fato, esse seria um modelo mais adequado por replicar mais fidedignamente o que se observa na população de humanos e deve ser testado no futuro próximo.

Quando analisamos os pesos dos filhotes notamos que aos 07 e 10 dias não há diferença entre os filhotes de mães tratadas com dieta

padrão e filhotes de mães obesas. Portanto, no nosso modelo, não encontramos efeitos da obesidade materna sobre o peso dos filhotes até o 10 dia de vida. No entanto, em animais mais velhos aos 16 dias de vida pós-natal, tanto machos quanto fêmeas, apresentaram ganho significativo de peso quando comparados aos animais filhos de mães tratadas com dieta padrão. Assim, é possível que a obesidade materna tenha influência sobre o peso corporal dos filhotes nas fases mais tardias. Outra possibilidade, no entanto, é dos filhotes estarem se alimentando da dieta da mãe. Isso levaria ao aumento do peso corporal independente do peso materno.

Em conclusão, a obesidade materna reduz a expressão da enzima D3 no SNC dos seus filhotes. Esse aumento na atividade da D3 pode levar a maior disponibilidade de T3 no SNC. Esse “hipertiroidismo” local pode estar envolvido nas alterações dos circuitos neurais do filhotes de mães obesas, descritas na literatura.

REFERÊNCIAS

ALBERTI, K.G., ZIMMET, P., & SHAW, J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. **Lancet** 366:1059-1062, 2005.

AMORIM, B. S., UETA, C. B., FREITAS, B.C.G., NASSIF, R. J., AOKI, M. S., GOUVEIA, C.H., CHRISTOFFOLETE, M.A., MORISCOT, A.S., LLIMONA, F., BRABEIRO, H., POSSOLO, H., CATANOZI, S., PASSARELLI, M., BIANCO, A.C., & RIBEIRO, M.O. A TRbeta-selective agonist confers resistance to diet-induced obesity. **J. Endocrinology** 203(2): 291-9, 2009.

ARAUJO, R.L.; ANDRADE, B.M.; PADRÓN, A.S.; GAIDHU M.P, PERRY, R.L.; CARVALHO D.P.; & CEDDIA, R.B. High-fat diet increases thyrotropin and oxygen consumption without altering circulating 3,5,3'-

triiodothyronine (T3) and thyroxine in rats: the role of iodothyronine deiodinases, reverse T3 production, and whole-body fat oxidation. **Endocrinology** Jul;151(7):3460-9, 2010.

BIANCO A.C., MAIA A.L., DA SILVA W.S., & CHRISTOFFOLETE M.A. Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure. **Biosci Rep.** Jun-Aug;25(3-4):191-208, 2005.

BIANCO A.C, & KIM B.W. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. **J Clin Invest.** Oct;116(10):2571-9, 2006.

BINDER D.K., & SCHARFMAN H.E. Brain-derived neurotrophic factor. **Growth Factors.** Sep;22(3):123-31, 2004.

BRUNTON, P.J., & RUSSELL, J.A. The expectant brain: adapting for motherhood. **Nat Rev Neurosci**, 9, pp. 11–25, 2008.

BURROW G.N. Thyroid dysfunction in the recently pregnant: postpartum thyroiditis **Thyroid** 4(3):363-5, 1994.

DUPRET D., REVEST J.M., KOEHL M., ICHAS F., DE GIORGI F., COSTET P., ABROUS D.N., & PIAZZA P.V. Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis. **PLoS One** Apr 9; 3(4), 2008.

DE ESCOBAR G.M., OBREGÓN M.J., & DEL REY FE. Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.** Jun; 18(2):225-48. 2004.

FARIOLI-VECCHIOLI S., SARAULLI D., COSTANZI M., PACIONI S., CINÀ I., ACETI M., MICHELI L., BACCI A., CESTARI V., & TIRONE F. The timing of differentiation of adult hippocampal neurons is crucial for spatial memory **PLoS Biol.** Oct 7;6(10):e246, 2008.

FAZIO, E. DE S. **Perfil nutricional de gestantes que recebem orientação dietética: avaliação do ganho ponderal materno total, tipo parto e resultados perinatais.** Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade de São Paulo, 2010.

- HADDOW J.E., PALOMAKI G.E., ALLAN W.C., WILLIAMS J.R., KNIGHT G.J., GAGNON J., O'HEIR C.E., MITCHELL M.L., HERMOS R.J., WAISBREN S.E., FAIX J.D., & KLEIN R.Z. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. **N Engl J Med.** Aug 19;341(8):549-55, 1999.
- HAMED, E.A., ZAKARY, M.M., AHMED, N.S., & GAMAL, R.M. Circulating leptin and insulin in obese patients with and without type 2 diabetes mellitus: relation to ghrelin and oxidative stress. **Diabetes Res Clin Pract.** 94 (3) pp. 434-441, 2011.
- LINDQVIST A., MOHAPEL P., BOUTER B., FRIELINGS DORF H., PIZZO D., BRUNDIN P., & ERLANSON-ALBERTSSON C. High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. **Eur J Neurol.** Dec;13(12):1385-8, 2006.
- LIU D., TENG W., SHAN Z., YU X., GAO Y., WANG S., FAN C., WANG H., & ZHANG H. The effect of maternal subclinical hypothyroidism during pregnancy on brain development in rat offspring. **Thyroid**, Aug; 20(8):909-15, 2010.
- MISRA, V.K., & TRUDEAU, S. The influence of overweight and obesity on longitudinal trends in maternal serum leptin levels during pregnancy. **Obesity**, 19 416-421, 2011.
- MOLTENI R., BARNARD R.J., YING Z., ROBERTS C.K., & GÓMEZ-PINILLA. F. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. **Neuroscience**, 112(4):803-14, 2002.
- MORAES, A.C.F. **Fatores Associados à obesidade em adolescentes.** Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade de São Paulo, 2011.
- SIMONIDES W.S., MULCAHEY M.A., REDOUT E.M., MULLER A., ZUIDWIJK M.J., VISSER T.J., WASSEN F.W., CRESCENZI A., DA-SILVA W.S., HARNEY J., ENGEL F.B., OBREGON M.J., LARSEN P.R., BIANCO A.C., & HUANG S.A. Hypoxia-inducible factor induces local thyroid hormone inactivation during hypoxic-ischemic disease in rats. **J Clin Invest.** Mar,118(3):975-83, 2008.
- SCHNEIDER M.J., FIERING S.N., THAI B., WU S.Y., ST GERMAIN E., PARLOW A.F., ST GERMAIN D.L., & GALTON V.A. Targeted disruption of the type 1 selenodeiodinase gene (Dio1) results in marked changes in thyroid hormone economy in mice. **Endocrinology**, Jan;147(1):580-9, 2006.
- SHORS T.J., MIESEGAES G., BEYLIN A., ZHAO M., RYDEL T., & GOULD E. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. **Nature**, Mar 15; 410(6826):372-6, 2001.
- STRANAHAN A.M., NORMAN E.D., LEE K., CUTLER R.G., TELLJOHANN R.S., EGAN J.M., & Mattson M.P. Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. **Hippocampus**, 18(11):1085-8, 2008.
- SUI L., & LI B.M. Effects of perinatal hypothyroidism on regulation of reelin and brain-derived neurotrophic factor gene expression in rat hippocampus: Role of DNA methylation and histone acetylation. **Steroids**, Dec;75(12):988-97, 2010.
- SUI L., & REN W.W. Administration of thyroid hormone increases reelin and brain-derived neurotrophic factor expression in rat hippocampus in vivo. **Brain Res.**, Feb 8;1313:9-24, 2010.
- TOZUKA, Y., KUMON, M., WADA, E., ONODERA, M., MOCHIZUKI, H., & WADA, K. Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring. **Neurochemistry International**, Oct;57(3):235-47, 2010.
- YAMADA-GOTO N., KATSUURA G., OCHI Y., EBIHARA K., KUSAKABE T., HOSODA K., & NAKAO K. Impairment of fear-conditioning responses and changes of brain

neurotrophic factors in diet-induced obese mice.

Journal of Neuroendocrinology, Aug
24(8):1120-5, 2012.

WRIGHT, T., LANGLEY-EVANS, S.C., &
VOIGT, J.P. The impact of maternal cafeteria
diet on anxiety-related behaviour and
exploration in the offspring. **Physiology &
Behavior** 103 164-172, 2011.