

**CICLOS DE PERDA E REGANHO DE PESO EM CAMUNDONGOS:
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS
APÓS SUPLEMENTAÇÃO COM ÔMEGA-3.**

Caio Cesar Ruy¹, Cíntia R. P. Cária¹, Alessandra Gambero¹.

¹ Universidade São Francisco, Bragança Paulista, São Paulo, Brazil

Autor correspondente: Caio Cesar Ruy

Laboratório: Farmacologia e Biologia molecular - USF

Endereço: Avenida Francisco de Assis, 2015, Jd. São José

Bragança Paulista, São Paulo, Brasil

CEP: 12915-000

E-mail: ruyccaio@gmail.com

RESUMO

Dietas restritivas e também as cirurgias bariátricas tem sido a opção aos obesos que necessitam reduzir o peso corporal de imediato. Entretanto, uma parcela significativa dos pacientes que emagrecem volta a ganhar peso, fenômeno conhecido no Brasil como “Efeito sanfona” ou na literatura como “Weight cycling”. Nem todas as alterações induzidas pela obesidade são revertidas durante o período de emagrecimento e no período de reganho do peso, alguns marcadores inflamatórios sistêmicos ou do tecido adiposo estão aumentados em relação aos animais que se mantiveram obesos. Deste modo, é necessário então estudar todas as alterações que ocorrem no tecido adiposo durante o processo de perda de peso e se intervenções feitas neste período podem se reverter em benefícios durante os ciclos subsequentes de reganho de peso. Desta forma, este projeto tem como objetivo estudar se intervenções feitas no período de emagrecimento como a suplementação com ácidos graxos n-3 (o que leva a possibilidade de aumento da produção de mediadores pró-resolução) durante o período de emagrecimento, podem melhorar ou reverter alterações inflamatórias no tecido adiposo neste período e interferir no período subsequente de reganho de peso, podendo assim gerar informações importantes que venham a nortear novas condutas em pacientes que estão em fase de emagrecimento para evitar efeitos deletérios se ocorrer o reganho de peso.

Palavras-chave: Obesidade; Ômega-3; Emagrecimento.

ABSTRACT

Restrictive diets and also bariatric surgeries have been the option for obese people who need to reduce body weight right away. However, a significant portion of the patients who lose weight regains weight gain, a phenomenon known in Brazil as "accordion effect" or in the literature as "Weight cycling". Not all obesity-induced changes are reversed during the slimming period and in the weight rewards period, some systemic inflammatory or adipose tissue markers are increased relative to animals that have remained obese. Thus, it is necessary then to study all the changes that occur in adipose tissue during the weight loss process and whether interventions made in this period can revert to benefits during subsequent cycles of weight regain. Thus, this project aims to study whether interventions made in the period of weight loss such as n-3 fatty acid supplementation (which leads to the possibility of increased production of pro-resolution mediators) during the weight loss period may improve or to revert inflammatory changes in adipose tissue in this period and to interfere in the subsequent period of weight regrowth, thus generating important information that may guide new behaviors in patients who are in the phase of weight loss to avoid deleterious effects if weight regain occurs.

Keywords: Obesity; Omega 3; Weight loss.

1. INTRODUÇÃO

Acredita-se que vários fatores podem contribuir para o reganho de peso que se segue a perda de peso induzida por dietas restritivas, como a celularidade do tecido adiposo, alterações endócrinas, alterações no metabolismo energético, responsividade neural e mecanismos neurais relacionados com a adição (Ochner et al., 2013). Dentre os motivos que levam pacientes a recidivarem após a cirurgia bariátrica podemos citar os de ordem psiquiátrica, a falta de atividade física, alterações endócrinas/metabólicas como o aumento dos níveis de grelina, não adesão às dietas além de motivos relacionados a falhas cirúrgicas (Karmali et al., 2013).

Trabalhos utilizando animais de experimentação, dietas hipercalóricas e ciclos de restrição alimentar têm gerado resultados interessantes auxiliando na compreensão dos fenômenos envolvidos no “efeito sanfona” e que poderão futuramente, contribuir para um manejo adequado deste quadro em humanos. Nem todas as alterações induzidas pela obesidade são revertidas durante o período de emagrecimento. Após 8 semanas de dieta adequada e perda de peso, camundongos previamente mantidos durante 8 semanas em dieta hiperlipídica apresentaram níveis séricos elevados de alanina aminotransferase (ALT) sugerindo que alterações hepáticas demandem de um tempo maior para serem restabelecidas (Barbosa-da-Silva et al., 2013). Camundongos obesos submetidos à restrição calórica e perda de peso apresentaram elevados níveis hipotalâmicos de NPY e AgRP, peptídeos orexígenos, enquanto os níveis de peptídeos anorexígenos (POMC e CART) não se alteraram, o que sugere um aumento de apetite como consequência da perda de peso (Yu et al., 2009). Um estudo recentemente publicado demonstrou que a perda e reganho de peso não compromete a expectativa de vida em camundongos C57Bl6. Embora os autores tenham registrado flutuações significativas nos níveis hormonais (leptina, resistina, GIP, IGF-1, insulina), na composição corporal e no status metabólico,

os animais submetidos aos ciclos de emagrecimento e reganho por alterações na dieta viveram o mesmo tempo que os controles magros e mais tempo que os obesos (List et al., 2013), ou seja, o “efeito sanfona” ainda é melhor do que a manutenção da obesidade, embora não haja um consenso sobre isso (Reed and Hill 1993). Enfoque importante tem sido dado às alterações no tecido adiposo durante os ciclos de perda de peso e reganho. Camundongos obesos submetidos a um ciclo de perda de peso e um ciclo de reganho apresentam a mesma composição corporal (peso, adiposidade) e status metabólico (colesterol, triglicerídeos, resposta glicêmica) que os controles que se mantiveram obesos durante o mesmo período (Barbosa-da-Silva et al., 2012). No entanto, os níveis no tecido adiposo de IL-6 e leptina mostraram-se elevados nos animais submetidos aos ciclos, enquanto os níveis de adiponectina estavam reduzidos. O remodelamento do tecido adiposo também foi alterado nos animais submetidos aos ciclos, resultando em um número de adipócitos aumentado (hiperplasia) (Barbosa-da-Silva et al., 2012). A avaliação do infiltrado de células inflamatórias no tecido adiposo revelou que os ciclos de perda e reganho não alteraram a presença ou fenótipo de macrófagos, mas aumentaram a presença de linfócitos T e de suas citocinas (Anderson et al., 2013). Ciclos curtos de dieta hipercalórica/restrrição alimentar aplicados em camundongos resultaram novamente em uma maior adiposidade, alterações no remodelamento do tecido adiposo (maior número de adipócitos), na eficiência energética e na expressão de genes relacionados ao ritmo circadiano (Dankel et al., 2013).

A perda de peso pela redução da adiposidade reduz a inflamação local no tecido adiposo como demonstrado experimentalmente e pelo seguimento de pacientes após cirurgia bariátrica (Ambega et al., 2013, Barbosa-da-Silva et al., 2012, Swarbrick et al., 2008). Esta redução é caracterizada pela redução de mediadores pró-inflamatórios clássicos como o TNF- α , IL-6, MCP-1. A suplementação de dietas hiperlipídicas com

ácidos graxos n-3 resulta em proteção reduzindo complicações decorrentes da inflamação no tecido adiposo durante a obesidade (Gonzalez-Periz et al., 2009, Neuhofer et al., 2013). A suplementação de dietas normocalóricas com ácidos graxos n-3 durante o período de perda de peso poderiam também se repercutir de forma positiva no período de perda de peso e até interferir no período de reganho impedindo o restabelecimento da inflamação, mas esta hipótese ainda precisa ser verificada.

2. OBJETIVOS

Estudar as alterações metabólicas e no tecido adiposo que ocorrem durante a perda de peso e se intervenções feitas no período de emagrecimento como a suplementação com Ω -3, podem melhorar ou reverter alterações metabólicas e inflamatórias no tecido adiposo ou até mesmo auxiliar num reganho subsequente.

3. JUSTIFICATIVAS

O objetivo desta proposta é através de um modelo experimental de obesidade (obesidade induzida por dieta hiperlipídica) impor um ciclo de perda de peso seguido da reintrodução da dieta hiperlipídica (período de reganho) e estudar as alterações metabólicas e do tecido adiposo. Pretende-se também introduzir uma intervenção dietética durante o período de emagrecimento, observando-se as respostas ao final do período de perda de peso e também ao final do período de reganho. Pretende-se com este projeto contribuir para a compreensão das alterações locais no tecido adiposo impostas pelo “efeito sanfona”, mas também se intervenções associadas ao período de perda de peso poderiam contribuir para evitar ou reduzir os efeitos deletérios do novo ganho de peso em nível local (tecido adiposo) e sistêmico.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss com 5 semanas de idade adquiridos do Centro Multiinstitucional de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB/UNICAMP). Os animais foram acondicionados em gaiolas plásticas individuais e mantidos no Biotério da Universidade São Francisco, com ciclos artificiais de 12 horas claro e escuro e temperatura controlada. Os animais se serviram ad libitum de água e ração. Os protocolos foram aprovados previamente pelo CEUA/USF (Protocolo 001.05.2014).

Protocolo experimental de ciclos de peso

Ao completarem 5 semanas de idade, os animais foram inicialmente divididos em dois grupos, onde um recebeu dieta padrão AIN-93 peletizada para camundongos fabricada pela Rhoster (Grupo magro) e o outro recebeu uma dieta hiperlipídica (Grupo obeso) preparada em nosso laboratório[1]. Todos os animais foram pesados semanalmente. Após 8 semanas, o grupo mantido em DH foi dividido como se segue:

- os animais obesos foram submetidos à redução calórica substituindo-se a dieta hiperlipídica por dieta padrão por 8 semanas e submetidos à eutanásia (Grupo Perda de Peso = PP).

- os animais obesos foram submetidos à redução calórica com dieta padrão por 8 semanas, e após o emagrecimento, foram submetidos ao reganho de peso com a reintrodução da dieta hiperlipídica por mais 8 semanas e submetidos à eutanásia (Grupo Perda de Peso/Reganho de Peso = PP/RP).

No momento da eutanásia do grupo PP, um grupo controle e um grupo obeso de mesma idade foram pareados. No momento da eutanásia do grupo PP/RP, um grupo controle e um grupo obeso de mesma idade também foram pareados.

Tabela 1. Composição de macronutrientes da dieta

	AIN-93		Dieta Hiperlipídica	
	g/kg	Kcal/kg	g/kg	Kcal/kg
Amido de milho	397,5	1590	115,5	462
Caseína	200	800	200	800
Sacarose	100	400	100	400
Maltodextrina	132	528	132	528
Banha de porco	-	-	312	528
Óleo de soja*	70	630	40	360
Celulose	50	-	50	-
Mix de minerais	35	-	35	-
Mix de vitaminas	10	-	10	-
L-Cistina	3	-	3	-
Colina	2,5	-	2,5	-
Total	1000	3948	1000	5358

Alimentação com dieta enriquecida com ω -3

Os animais foram alimentados com uma dieta enriquecida com óleo de salmão (4,5% - RhosterInd e Com LTDA) durante o período de perda de peso e foram denominados PP + ω -3. Novamente, metade dos animais foram eutanasiados com 16 semanas e metade foi submetida ao processo de reengorda com a dieta hiperlipídica (PP/RP + ω -3).

Glicemia basal e Teste de tolerância à Insulina (ITT)

Os animais foram mantidos em jejum por 6 horas e foi realizada uma incisão na cauda de cada animal para a coleta de uma pequena gota de sangue e determinação da

glicemia basal utilizando glicosímetro. Para o ITT, os animais receberam via i.p. 1,5 U/kg de insulina e os níveis glicêmicos foram avaliados após 5, 10, 15 e 30 minutos. Os valores glicêmicos foram plotados e a inclinação das curvas avaliada usando o programa GraphPadInstat (kITT). O ITT foi sempre realizado na semana que antecedeu a eutanásia.

Sacrifício dos animais e coleta de materiais

Os animais foram anestesiados com uma mistura 1:1 v/v de cetamina 100 mg/ml e xilasina a 2% no volume de 0,3 ul para cada 100 g de peso corpóreo visando uma anestesia profunda. A coleta de sangue nos camundongos foi realizada por punção cardíaca. O sangue foi coletado utilizando seringa sem anticoagulante e, posteriormente, centrifugado em 2000 RPM por 15 minutos. O soro foi guardado em temperatura de -20°C para utilização posterior.

O animal foi submetido a eutanásia pela retirada do coração sob efeito do anestésico. Após a eutanásia, o tecido adiposo epididimal, perirenal e subcutâneo, o fígado e o músculo gastrocnêmio, foram coletados e pesados. Biópsias de fígado e tecido adiposo epididimal foram armazenadas para posterior utilização.

Análise do gasto energético

Calorimetria indireta foi avaliada utilizando o sistema Oxylet/Physiocage (Panlab, Barcelona, Espanha), em que os animais foram colocados individualmente em câmaras respiratórias (temperatura: 22-23° C, umidade: 45-55%, ciclo claro escuro 12/12 hs) com fluxo de ar de 0,5 L/min. Durante as 24 hs de análise, O₂ (%) e CO₂ (%) foram medidos a cada 9 minutos. O consumo de O₂, de CO₂ e o gasto energético (kCal/h/kg^{0.75}) foram calculados pelo Software Metabolism (Panlab).

Análise histológica do tecido adiposo

Fragmentos de tecido adiposo epididimal foram acondicionados em formalina tamponada a 10%. Posteriormente, os fragmentos foram processados e emblocados em parafina. Cortes histológicos de 5 µm foram corados com Hematoxilina e Eosina para determinação do tamanho dos adipócitos. As imagens foram capturadas em um aumento de 40x com microscópio acoplado a um sistema de detecção. A mensuração do tamanho dos adipócitos foi realizada a partir da análise de 500 células por grupo com auxílio do software ImageJ.

Extração de proteínas e determinação da produção de TNF- α no tecido adiposo epididimal

Biópsias de tecido adiposo epididimal foram coletadas e homogeneizadas em tampão de solubilização contendo Tris 100 mM (pH 7.6), Triton X-100 1%, NaCl 150 mM, aprotinina 0.1 mg, 35 mg PMSF/ml, Na₃VO₄ 10 mM, NaF 100 mM, Na₄P₂O₇ 10 mM e EDTA 4 mM. Os extratos foram centrifugados a 15000 rpm a 4°C, 45 min. O extrato foi coletado e utilizado na dosagem de proteínas totais e, posteriormente no kit comercial TNF alpha Mouse Elisa Kit (Abcam, Cambridge, UK) seguindo as instruções do fabricante. O resultado da dosagem de proteínas foi utilizado na correção da quantidade de cada analito quantificado.

Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média acompanhada do respectivo erro padrão da média (EPM). Diferenças estatisticamente significantes foram determinadas utilizando-se análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Dunnett para comparações múltiplas. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeitos da suplementação com ômega-3 durante o período emagrecimento

O emagrecimento dos animais na vigência de uma dieta normolipídica acrescida de óleo de salmão como fonte de suplementação com ômega-3, não resultou em alterações no peso final (Figura 1), adiposidade (Figura 2) ou parâmetros metabólicos avaliados (tolerância a insulina, glicemia de jejum, lipidemia), bem como o gasto energético também não foi alterado (Tabela 2). Um trabalho com humanos mostrou que a suplementação com óleo de peixe durante 4 semanas, associado a uma dieta de baixo aporte calórico, não resultava em perda de peso adicional quando comparada a um grupo que foi suplementada com óleo monoinsaturado (placebo), nem alterou o peso na fase de manutenção [9]. Mas estes pacientes apresentaram menores valores para glicemia de jejum e níveis séricos menores de triacilglicerol [9]. Um trabalho experimental com camundongos submetidos à restrição calórica e uma suplementação com 15% de EPAX (óleo concentrado com ω -3) mostrou alterações finais no peso corporal, adiposidade visceral, menor área de adipócitos, bem como redução dos níveis de triglicérides [15], diferenças que não foram registradas em nossos experimentos com camundongos, exceto pela redução registrada na área dos adipócitos (Figura 3) acompanhado da expressão de TNF- α reduzido no grupo suplementado com ω -3 (4).

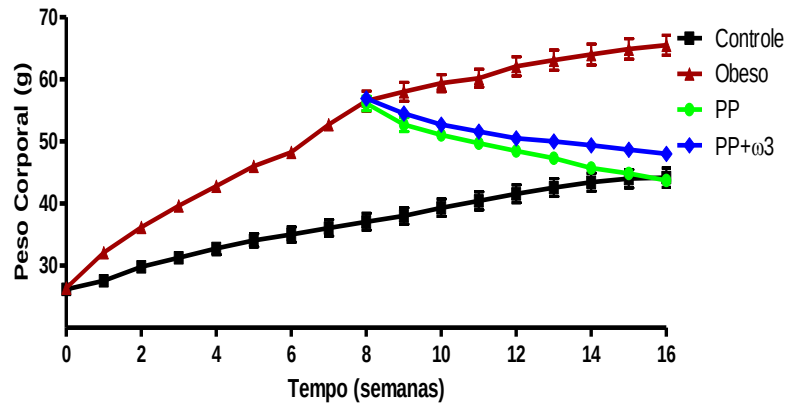


Figura 1. Peso corporal durante o protocolo de 16 semanas mostrando os animais mantidos em dieta controle (Grupo Controle), obesos mantidos em dieta hiperlipídica (Grupo Obeso), que passaram pela restrição calórica para perda de peso (Grupo PP) e passaram pela restrição calórica para perda de peso ingerindo uma dieta enriquecida com ω -3 (Grupo PP + ω -3). Cada grupo experimental foi composto por 5 animais.

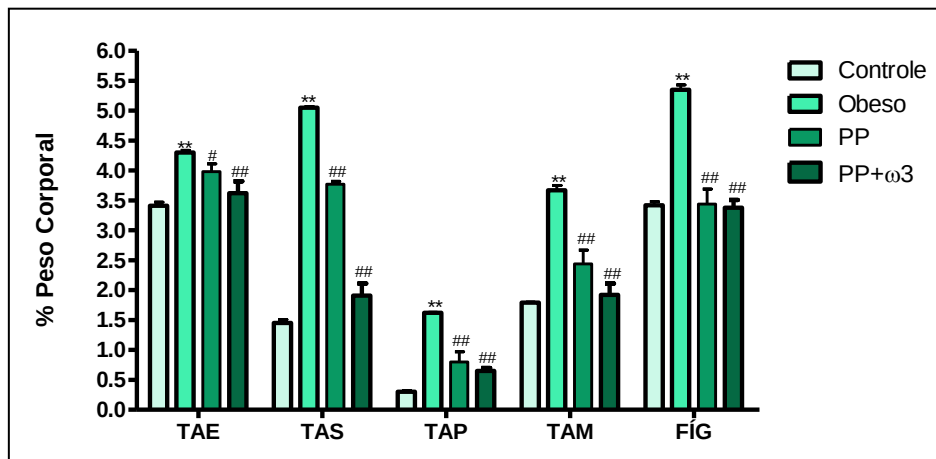


Figura 2. Peso corporal durante o protocolo de 16 semanas (A) e composição corporal final (B) dos animais mantidos em dieta controle (Grupo Controle), obesos mantidos em dieta hiperlipídica (Grupo Obeso), que passaram pela restrição calórica para perda de peso (Grupo PP) e passaram pela restrição calórica para perda de peso ingerindo uma dieta enriquecida com ω -3 (Grupo PP + ω -3). Cada grupo experimental foi composto por 5 animais. Estoque de tecido adiposo epididimal (TAE), estoque de tecido adiposo subcutâneo (TAS), estoque de tecido adiposo perirrenal (TAP), estoque de tecido adiposo mesentérico (TAM) e fígado (FÍG).

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos de animais magros (Grupo controle), obesos (Grupo obeso), perda de peso (Grupo PP) e perda de peso suplementado com ω 3(Grupo PP+ ω -3).

	Controle	Obeso	PP	PP+ ω -3
Glicemia Basal (mg/dL)	122±6	264±20 ^a	138±5 ^b	160±17 ^{a,b}
kITT	5.2±0.6	0.8±0.1 ^a	3.5±0.3 ^{a,b}	2.9±0.2 ^{a,b}
Colesterol total (mg/dL)	163±7	261±15 ^a	200±5 ^{a,b}	206±20 ^{a,b}
Triacilglicerol (mg/dL)	139±11	230±18 ^a	176±10 ^{a,b}	179±16 ^{a,b}
EE (kcal/day/kg ^{0,75})	170±10	121±10 ^a	126±9 ^a	116±15 ^a

n=5. ^ap<0,05 quando comparado ao “Grupo controle” e ^b p<0,05 quando comparado ao “Grupo Obeso”.

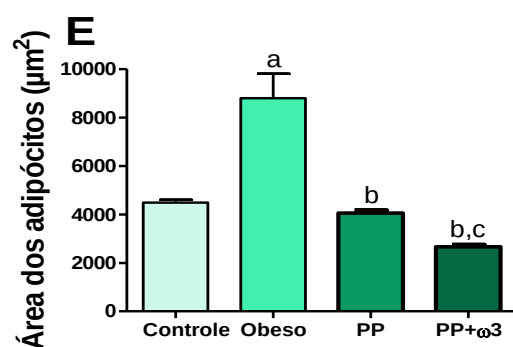
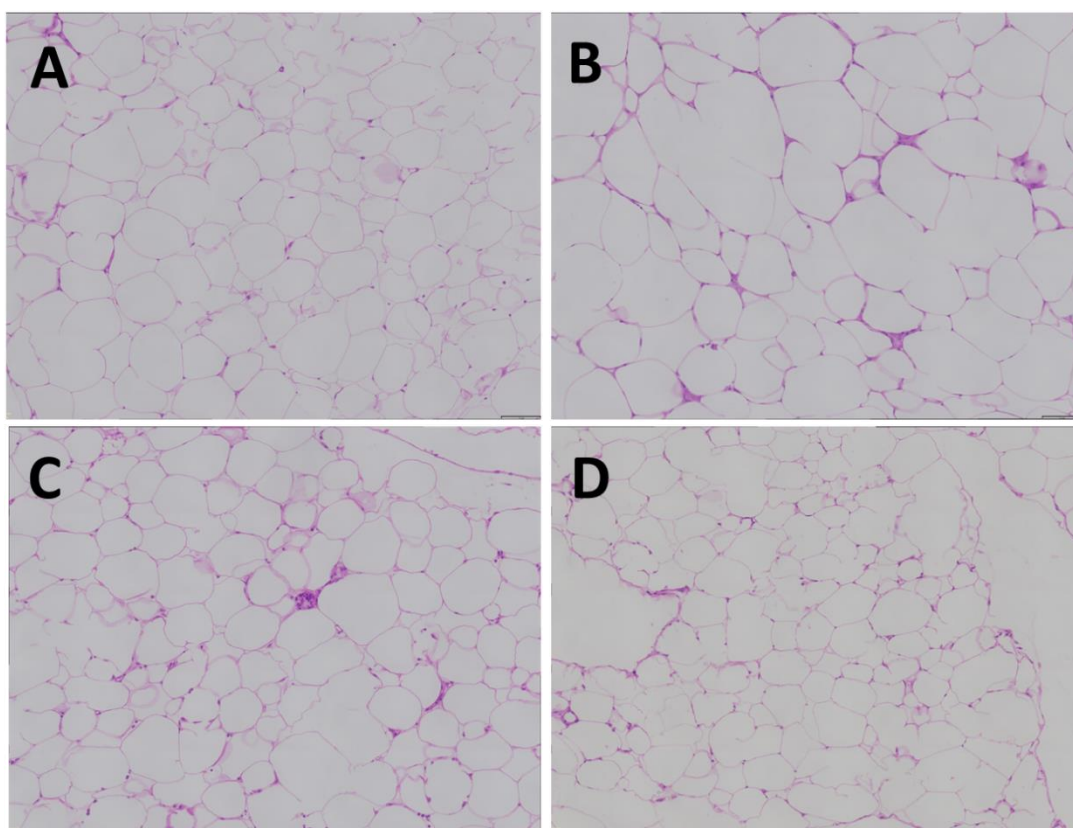


Figura 3. Área dos adipócitos do tecido adiposo epididimal dos camundongos mantidos durante 16 semanas em dieta controle (A), obesos mantidos em dieta hiperlipídica (B), que passaram pela restrição calórica para perda de peso (C) e passaram pela restrição calórica para perda de peso recebendo dieta suplementada com ômega-3 (D). Área dos adipócitos (E). $n=5$. ^a $p<0,05$ quando comparado ao grupo Controle, ^b $p<0,05$ quando comparado ao grupo Obeso e ^c $p<0,05$ quando comparado ao grupo PP.

Há relatos prévios na literatura que a restrição calórica, o consumo moderado de álcool ou uma dieta mediterrânea, em teoria, rica em ômega-3 aumentariam as concentrações de adiponectina [21], bem como trabalho experimental que associou a restrição calórica com a suplementação com 15% de EPAX mostrou que níveis de leptina estavam menores no tecido adiposo visceral [20]. Nossos resultados de quantificação de adipocinas no tecido adiposo visceral mostraram que a associação da restrição calórica com a suplementação com óleo de peixe não resultou em efeitos sinérgicos e não alterou os níveis de adiponectina (que se mantiveram baixos após a perda de peso), bem como os de leptina, que foram reduzidos adequadamente pela restrição calórica até os níveis do controle (Tabela 3).

Tabela 3. Níveis de adipocinas em tecido adiposo epididimal de animais de 16 semanas magros (Grupo magro), obesos (Grupo obeso), perda de peso (Grupo PP) e perda de peso suplementado com ω 3 (Grupo PP+ ω -3).

	Magro	Obeso	PP	PP+ ω -3
Adiponectina	4183±628	2625±471 ^a	2104±338 ^a	2798±231 ^a
Leptina	318±84	1128±197 ^a	212±36 ^b	408±145 ^b
MCP-1	6,8±1,1	25,6±10,6 ^a	8,2±1,4 ^b	8,9±3,9
IL-6	7,8±1,0	10,1±1,7	5,8±0,8 ^b	7,2±0,9
TNF- α	7,6±2,2	17,7±2,9 ^a	13,3±1,7 ^a	9,8±0,9 ^b

n=5. ^ap<0,05 quando comparado ao grupo controle e ^b p<0,05 quando comparado ao grupo obeso.

Apesar da melhora metabólica apresentada no grupo PP não há a redução significativa da expressão de TNF- α no mesmo, já no grupo PP+ ω -3 os resultados indicam expressão de TNF- α reduzida (Tabela 3). Um trabalho *in vitro* sugere que o DHA pode diminuir o grau de MCP1 e IL-6 secretado pelos adipócitos e pode reduzir o grau de polarização M1 dos macrófagos recrutados para o tecido adiposo, diminuindo assim a intensidade da conversa pró-inflamatória entre adipócitos e Macrófagos em tecido adiposo obeso e os níveis de TNF- α [22]. Isso representa que a suplementação é capaz de diminuir citocinas pró-inflamatórias importantes no processo e paralelamente é observada a diminuição do tamanho de adipócitos no grupo suplementado (Figura 3).

Efeitos do reganho de peso em animais que emagreceram com a suplementação com ômega-3 durante o período emagrecimento

Quando os animais foram expostos novamente a dieta hiperlipídica, não houveram diferenças entre o reganho de peso, adiposidade, controle glicêmico e lipemia (Figura 4, 5 e Tabela 4).

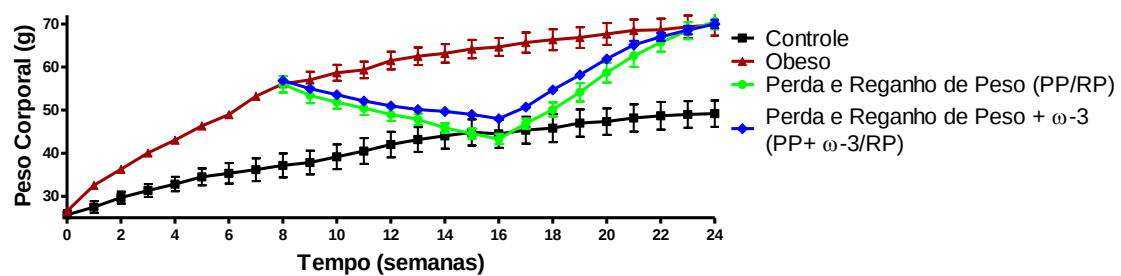


Figura 4. Peso corporal durante o protocolo de 24 semanas mostrando os animais mantidos em dieta controle (Grupo Controle), obesos mantidos em dieta hiperlipídica (Grupo Obeso), que passaram pela restrição calórica para perda de peso e submetidos ao reganho de peso (Grupo PP/RP) e passaram pela restrição calórica para perda de peso recebendo dieta suplementada com ômega-3 e depois submetidos ao reganho de peso (Grupo PP/RP + ω-3). Cada grupo experimental foi composto por 5-6 animais.

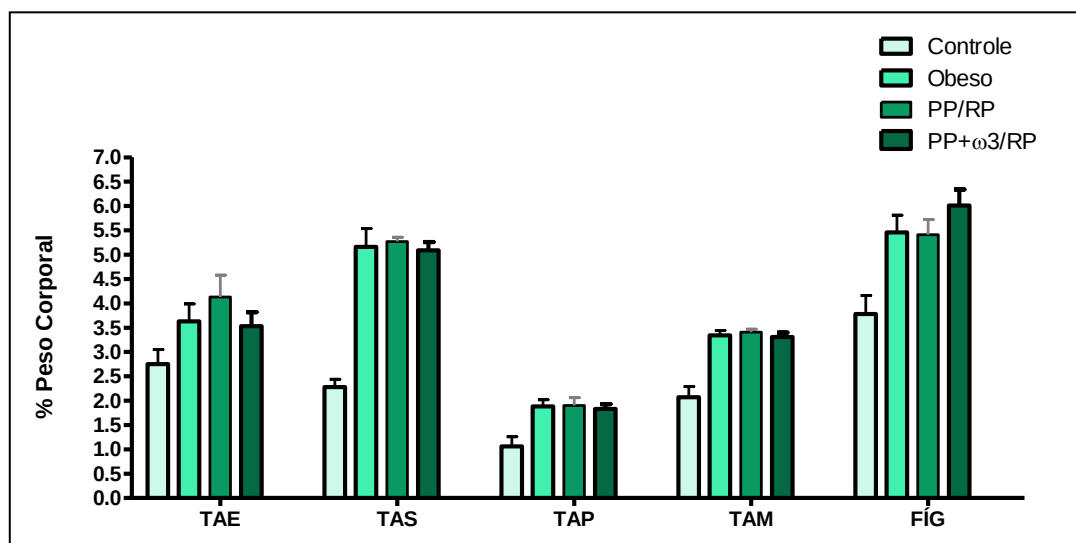


Figura 5. Composição corporal ao final do protocolo de 24 semanas nos animais mantidos em dieta controle (Grupo Controle), obesos mantidos em dieta hiperlipídica (Grupo Obeso), que passaram pela restrição calórica para perda de peso e submetidos ao reganho de peso (Grupo PP/RP) e passaram pela restrição calórica para perda de peso recebendo dieta suplementada com ômega-3 e depois submetidos ao reganho de peso (PP/RP + ω -3). Estoque de tecido adiposo epididimal (TAE), estoque de tecido adiposo subcutâneo (TAS), estoque de tecido adiposo perirrenal (TAP), estoque de tecido adiposo mesentérico (TAM) e fígado (FIG). (n=5-6) ^ap<0,05 quando comparado ao grupo controle.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de animais Controle, Obeso, Perda e Reganho de Peso (PP/RP) e perda de peso suplementado com ω 3 com reganho de peso (PP/RP+ ω -3).

	Controle	Obeso	PP/RP	PP/RP+ ω -3
Glicemia Basal (mg/dL)	136±12	199±10 ^a	202±12 ^a	170±15 ^a
kITT	3.9±0.9	1.3±0.6 ^a	0.9±0.3 ^a	1.2±.2 ^a
Colesterol total (mg/dL)	205±8	246±10	213±14	222±15
Triacilglicerol (mg/dL)	103±9	150±10 ^a	138±16	175±29
Gasto energético (kcal/day/kg ^{0.75})	125±1	136±4	133±6	128±7

n=5. ^ap<0,05 quando comparado ao Grupo Controle.

As diferenças observadas ao final do período de reengorda dos animais que emagreceram com a suplementação com ômega-3, foi uma menor quantidade de leptina e IL-6 no tecido adiposo visceral (Tabela 5). A redução de leptina havia sido reportada quando animais emagreciam com a suplementação de 15% de EPAX [20].

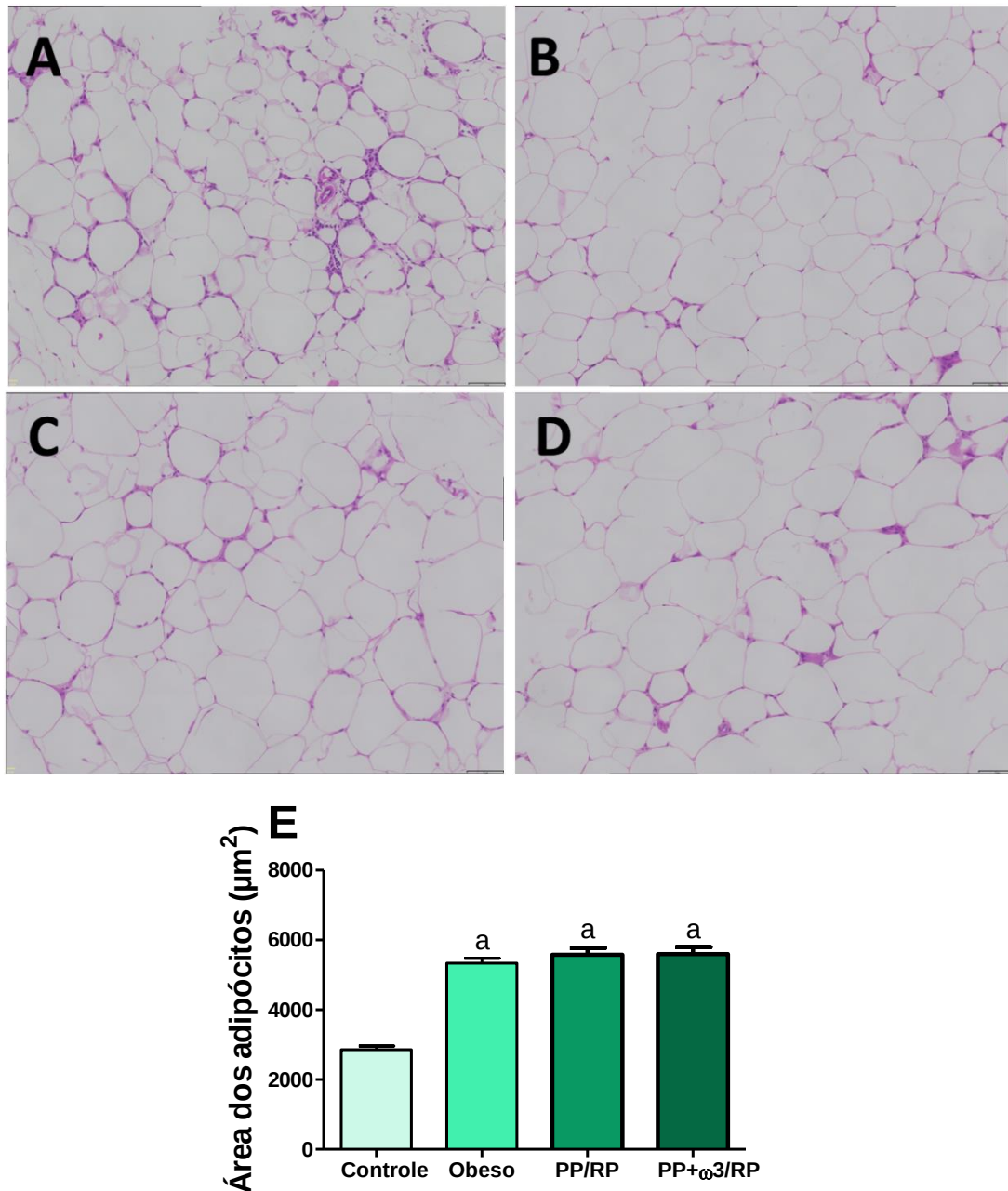


Figura 6. Área dos adipócitos do tecido adiposo epididimal dos camundongos mantidos durante 24 semanas em dieta controle (A), obesos mantidos em dieta hiperlipídica (B), que passaram pela perda e reganho de peso (C) e passaram pela restrição calórica para perda de peso recebendo dieta suplementada com ômega-3 e depois pelo reganho de peso (D). Área dos adipócitos (E). $n=5$. ^a $p<0,05$ quando comparado ao grupo Controle.

Tabela 5. Níveis de adipocinas em tecido adiposo epididimal de animais de 24 semanas Controle, Obeso, Perda e Reganho de Peso (PP/RP) e perda de peso suplementado com ω 3 com reganho de peso(PP/RP+ ω -3).

	Controle	Obeso	PP/RP	PP/RP+ ω -3
Adiponectina	9882 $\pm$ 1472	6578 $\pm$ 714 ^a	6824 $\pm$ 978 ^a	4692 $\pm$ 847 ^a
Leptina	1289 $\pm$ 443	3787 $\pm$ 930 ^a	2464 $\pm$ 538 ^a	500 $\pm$ 235 ^{b,c}
MCP-1	2,1 $\pm$ 0,2	3,2 $\pm$ 0,6 ^a	8,7 $\pm$ 2,7 ^{a,b}	9,7 $\pm$ 3,5 ^{a,b}
IL-6	1,5 $\pm$ 0,6	4,8 $\pm$ 1,4 ^a	4,1 $\pm$ 0,4 ^a	1,4 $\pm$ 0,4 ^{b,c}
TNF- α	6,6 $\pm$ 1,5	12,3 $\pm$ 0,9 ^a	12,2 $\pm$ 0,7 ^a	10,4 $\pm$ 4,8

n=5. ^ap<0,05 quando comparado ao grupo Controle, ^b p<0,05 quando comparado ao grupo Obeso e ^c p<0,05 quando comparado ao grupo PP/RP.

6. CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, nota-se que a suplementação com óleo de peixe durante quatro semanas associados a uma dieta de baixo aporte calórico, não resultou em perda de peso adicional quando comparado a um grupo que foi suplementado com dieta hiperlipídica feita em nosso laboratório, assim como aos valores de glicemia do jejum e triacilglicerol se mantém elevado ao final das 24 semanas.

Porém foi observado uma diminuição na expressão de TNF- α no grupo suplementado com ω -3 durante a perda de peso, acompanhado da redução do tamanho de adipócitos no mesmo grupo. Já no período de reengorda dos animais que emagreceram com a suplementação, nota-se uma menor quantidade de leptina e IL-6 no tecido adiposo visceral, sugerindo que a suplementação com ω -3 durante o emagrecimento pode resultar em benefícios à saúde.

7. REFERÊNCIAS

1. AMBEBE EJ, STYN MA, KULLER LH, BROOKS MM, EVANS RW, BURKE LE. Longitudinal effects of weight loss and regain on cytokine concentration of obese adults. **Metabolism**. 2013;62:1218-22.
2. ANDERSON EK, GUTIERREZ DA, KENNEDY A, HASTY AH. Weight cycling increases T-cell accumulation in adipose tissue and impairs systemic glucose tolerance. **Diabetes**. 2013;62:3180-8.
3. BARBOSA-DA-SILVA S, DA SILVA NC, AGUILA MB, MANDARIM-DE-LACERDA CA. Liver damage is not reversed during the lean period in diet-induced weight cycling in mice. **Hepatol Res**. 2013;10.1111/hepr.12138.
4. BARBOSA-DA-SILVA S, FRAULOB-AQUINO JC, LOPES JR, MANDARIM-DE-LACERDA CA, AGUILA MB. Weight cycling enhances adipose tissue inflammatory responses in male mice. **PLoS One**. 2012;7:e39837.
5. BLACKBURN GL, WILSON GT, KANDERS BS, STEIN LJ, LAVIN PT, ADLER J, ET AL. Weight cycling: the experience of human dieters. **Am J Clin Nutr**. 1989;49:1105-9.
6. DANKEL SN, DEGERUD EM, BORKOWSKI K, FJAERE E, MIDTBO LK, HAUGEN C, ET AL. Weight cycling promotes fat gain and altered clock gene expression in adipose tissue in C57BL/6J mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. 2013;10.1152/ajpendo.00188.2013.
7. GONZALEZ-PERIZ A, HORRILLO R, FERRE N, GRONERT K, DONG B, MORAN-SALVADOR E, ET AL. Obesity-induced insulin resistance and hepatic steatosis are alleviated by omega-3 fatty acids: a role for resolvins and protectins. **FASEB J**. 2009;23:1946-57.
8. I.A. MUNRO, M.L. GARG. Dietary supplementation with n-3 PUFA does not promote weight loss when combined with a very-low-energy diet, **Br J Nutr**. 2012; 108: 1466-1474.
9. JILKOVA ZM, HENSLER M, MEDRIKOVA D, JANOVSKA P, HORAKOVA O, ROSSMEISL M, ET AL. Adipose tissue-related proteins locally associated with resolution of inflammation in obese mice. **Int J Obes (Lond)**. 2014;38:216-23.
10. KARMALI S, BRAR B, SHI X, SHARMA AM, DE GARA C, BIRCH DW. Weight recidivism post-bariatric surgery: a systematic review. **Obes Surg**. 2013;23:1922-33.
11. LIST EO, BERRYMAN DE, WRIGHT-PIEKARSKI J, JARA A, FUNK K, KOPCHICK JJ. The effects of weight cycling on lifespan in male C57BL/6J mice. **Int J Obes (Lond)**. 2013;37:1088-94.

12. NEUHOFER A, ZEYDA M, MASCHER D, ITARIU BK, MURANO I, LEITNER L, ET AL. Impaired local production of proresolving lipid mediators in obesity and 17-HDHA as a potential treatment for obesity-associated inflammation. **Diabetes**. 2013;62:1945-56.
13. OCHNER CN, BARRIOS DM, LEE CD, PI-SUNYER FX. Biological mechanisms that promote weight regain following weight loss in obese humans. **Physiol Behav**. 2013;120:106-13.
14. P. FLACHS, R. RUHL, M. HENSLER, P. JANOVSKA, P. ZOUHAR, V. KUS, Z. MACEK JILKOVA, E. PAPP, O. KUDA, M. SVOBODOVA, M. ROSSMEISL, G. TSENOV, V. MOHAMED-ALI, J. KOPECKY. Synergistic induction of lipid catabolism and anti-inflammatory lipids in white fat of dietary obese mice in response to calorie restriction and n-3 fatty acids, **Diabetologia**. 2011; 54: 2626-2638.
15. REED GW, HILL JO. Weight cycling: a review of the animal literature. **Obes Res**. 1993;1:392-402.
16. SWARBRICK MM, STANHOPE KL, AUSTRHEIM-SMITH IT, VAN LOAN MD, ALI MR, WOLFE BM, et al. Longitudinal changes in pancreatic and adipocyte hormones following Roux-en-Y gastric bypass surgery. **Diabetologia**. 2008;51:1901-11.
17. YU Y, DENG C, HUANG XF. Obese reversal by a chronic energy restricted diet leaves an increased Arc NPY/AgRP, but no alteration in POMC/CART, mRNA expression in diet-induced obese mice. **Behav Brain Res**. 2009;205:50-6.
18. P. Flachs, R. Ruhl, M. Hensler, P. Janovska, P. Zouhar, V. Kus, Z. Macek Jilkova, E. Papp, O. Kuda, M. Svobodova, M. Rossmeisl, G. Tsenov, V. Mohamed-Ali, J. Kopecky, Synergistic induction of lipid catabolism and anti-inflammatory lipids in white fat of dietary obese mice in response to calorie restriction and n-3 fatty acids, *Diabetologia* 54 (2011) 2626-2638.
19. C.E. Reis, J. Bressan, R.C. Alfenas, Effect of the diet components on adiponectin levels, *Nutr Hosp* 25 (2010) 881-888.
20. A. Boer, J. M. Monk, L. E. Robinson. Docosahexaenoic Acid Decreases Pro-Inflammatory Mediators in an In Vitro Murine Adipocyte Macrophage Co-Culture Model, *Plos One* (2014).