

INFLUÊNCIA DA SUPEREXPRESSÃO DA APOCIII HUMANA NA MORFOLOGIA OVARIANA

Júlia Afonso Stuani^{1*}, Smyrna Cele Cabral Maia Sales¹, Jairo Augusto Berti¹,
Jaqueline de Carvalho Rinaldi^{1,2}, Carmem Patrícia Barbosa¹

¹Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil. *E-mail:ra138324@uem.br

²Universidade Unicesumar, Maringá, Brasil

Resumo: As dislipidemias ligadas à apolipoproteína CIII (apoCIII) elevam a síntese de VLDL e reduzem a hidrólise de triglicerídeos, induzindo hipertrigliceridemia e suas repercussões metabólicas. O estudo utiliza camundongas transgênicas com superexpressão da apoCIII humana para investigar como a dislipidemia crônica associada ao envelhecimento e à multiparidade altera a morfologia ovariana. Foram analisados aspectos morfológicos em fêmeas transgênicas e não transgênicas.

Palavras-chave: Hipertrigliceridemia; Envelhecimento; Sistema reprodutor.

INTRODUÇÃO

As dislipidemias podem ser desencadeadas por fatores como dieta, medicamentos, alterações hormonais, diabetes mellitus, genética e envelhecimento (Lee et al., 2011; Spitler e Davies, 2020). Dentre elas, a hipertrigliceridemia destaca-se como uma condição de relevância clínica, associada ao aumento do risco cardiovascular e da mortalidade global (AHA, 2017).

A hipertrigliceridemia caracteriza-se pela elevação dos triglicerídeos (TG), lipídios formados por glicerol e ácidos graxos, transportados na circulação por quilomícrons (QM) e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). A metabolização dos TG depende da ação da lipase lipoproteica (LPL), cuja atividade é regulada positivamente pela apoCII e negativamente pela apolipoproteína CIII (apoCIII) (Curi, 2001). Dessa forma, o aumento da expressão da apoCIII está diretamente relacionado à elevação dos níveis plasmáticos de TG (Feingold, 2018). O envelhecimento está associado a alterações metabólicas que incluem redução da atividade da LPL e mudanças na distribuição do tecido adiposo, favorecendo o aumento da trigliceridemia (Spitler e Davies, 2020). Além disso, fatores como sexo e variações genéticas na apoCIII influenciam significativamente o metabolismo lipídico e sua relação com doenças associadas à idade (Minihane et al., 2022). Estudos experimentais indicam que alterações na expressão da apoCIII podem impactar a regulação dos TG e a atividade enzimática, especialmente em modelos envelhecidos (Araki et al., 2004).

Paralelamente, evidências apontam que alterações metabólicas decorrentes da hiperlipidemia podem afetar o sistema reprodutor feminino, incluindo modificações na função ovariana e no ambiente celular. Estudos em modelos animais demonstram que dietas ricas em lipídios podem induzir alterações ovarianas semelhantes às observadas na síndrome dos ovários policísticos (SOP) (Patel e Shash, 2018). Além disso, o excesso de ácidos graxos está associado a processos inflamatórios, estresse celular, disfunção mitocondrial e prejuízos à qualidade oocitária (Broughton e Moley, 2017).

Apesar da relação já estabelecida entre metabolismo lipídico e função reprodutiva, ainda são escassos estudos que investiguem, de forma integrada, os efeitos da hipertrigliceridemia associada à superexpressão da apoCIII sobre a morfologia ovariana, especialmente considerando variáveis como envelhecimento e histórico reprodutivo. Nesse contexto, o presente estudo buscou analisar a influência da dislipidemia crônica sobre parâmetros morfológicos ovarianos em camundongas transgênicas e não transgênicas, considerando a nuliparidade e a multiparidade como fatores moduladores.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram previamente aprovados pela Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA-UEM), sob o protocolo nº 6201190623.

Foram considerados transgênicos os animais que superexpressam a apolipoproteína CIII (apoCIII), caracterizando quadro de hipertrigliceridemia, e não transgênicos (NTG) aqueles que apresentam expressão endógena da proteína e níveis normais de triglicerídeos. A genotipagem foi realizada por meio da dosagem de triglicerídeos plasmáticos por método colorimétrico, sendo classificados como transgênicos os animais com valores superiores a 300 mg/dL e como NTG aqueles com valores inferiores a 100 mg/dL (Salerno et al., 2007; Raposo et al., 2015). Foram utilizados 2 grupos experimentais de camundongas da linhagem C57BL/6, distribuídas em transgênicas e não transgênicas (n=4/grupo): apoCIII-tgn-20m (idosas, 20 meses, múltiparas) e NTG-20m (idosas, múltiparas). Para a eutanásia, os animais foram pesados e anestesiados individualmente em câmara com isoflurano (Isoforine®), seguida de exsanguinação via retro-orbital com capilar heparinizado. A confirmação da eutanásia foi realizada por toracotomia. Os ovários foram coletados, fixados, incluídos em parafina e submetidos à obtenção de cortes transversais semi-seriados, com 15 lâminas contendo quatro cortes por amostra, para posterior análise morfológica e morfométrica.

A avaliação da reserva ovariana foi realizada por meio da contagem de folículos em cortes histológicos selecionados, sendo analisados dois cortes por lâmina. A análise morfométrica foi conduzida utilizando a grade de Weibel, baseada em sistema de contagem de pontos (Weibel et al., 1966), composta por 168 pontos sobrepostos às imagens histológicas. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão e analisados estatisticamente por meio do teste t de Student (comparação entre dois grupos) ou análise de variância (ANOVA two-way), seguida do pós-teste de Bonferroni, quando apropriado, utilizando o software GraphPad Prism 8®. Espera-se que os resultados contribuam para a compreensão dos efeitos da dislipidemia associada à superexpressão da apoCIII, do envelhecimento e da multiparidade sobre a morfologia ovariana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do peso corporal e dos parâmetros séricos confirmou a adequação do modelo experimental utilizado (Tabela 1). Observou-se aumento significativo do peso corporal e da gordura gonadal nos animais transgênicos em comparação ao grupo controle ($p<0,01$). Além disso, os níveis de triglicerídeos foram significativamente mais elevados no grupo transgênico, caracterizando o estado de hipertrigliceridemia, induzida pela superexpressão da APOCIII humana. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos valores de

glicemia em jejum e no peso dos ovários entre os grupos.

A histoarquitetura ovariana apresentou-se preservada em ambos os grupos, com organização típica da região cortical, contendo folículos ovarianos em diferentes estágios de desenvolvimento, estroma íntegro e região medular vascularizada (Figura 1).

Tabela 1: Parâmetros biométricos e metabólicos

Parâmetros	Camundonga de 20 meses (n=4)	
	Grupo Controle	Grupo Transgênico
Peso (mg)	23,5	26,0*
Glicemia jejum	107	104
Triglicerídeos	98	299*
Ovário (mg)	0,30	0,31
Gordura Gonadal (mg)	0,48	0,55*

*indica $p<0,01$

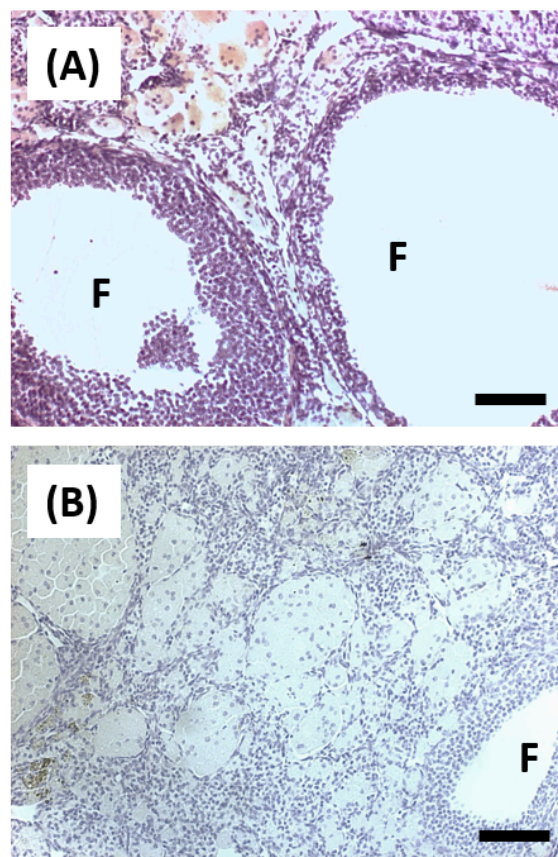


Figura 1. Fotomicrografia corada em Hematoxilina e Eosina demonstrando histoarquitetura ovariana de animal do grupo controle (A) e transgênico (B). F indica folículo. Aumento de 10X.

A análise morfométrica pelo método de Weibel evidenciou que a porcentagem de área ocupada por folículos foi maior nos animais controle em comparação aos transgênicos (34% vs 22%). Em

contrapartida, observou-se aumento proporcional da área estromal nos ovários dos animais transgênicos.

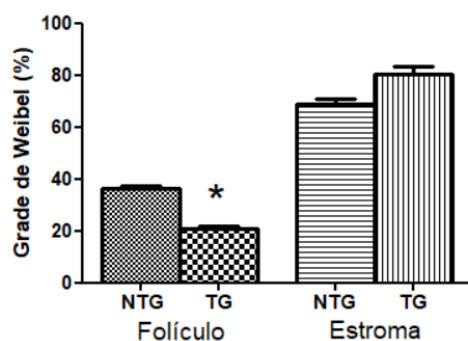


Figura 2. Gráfico representativo do resultado da grade de Weibel mensurando a proporção da área ocupada pelo estroma e os folículos no ovário dos animais do grupo não-transgênico (NTG) e transgênico (T); * indica $p < 0,05$; $N = 4$.

Os resultados obtidos confirmam a eficácia do modelo experimental de hipertrigliceridemia induzida pela superexpressão da apoCIII, evidenciada pelo aumento dos níveis séricos de triglicerídeos e pelo maior acúmulo de gordura gonadal nos animais transgênicos. Esses achados estão em concordância com estudos prévios que demonstram que a apoCIII atua como inibidora da lipase lipoproteica (LPL), reduzindo a hidrólise de triglicerídeos e favorecendo seu acúmulo na circulação (Feingold, 2018).

O aumento da adiposidade observado nos animais transgênicos sugere um estado metabólico propício à lipotoxicidade, condição frequentemente associada à inflamação crônica de baixo grau e disfunções teciduais. Nesse contexto, o excesso de lipídios circulantes pode impactar diretamente tecidos metabolicamente ativos, incluindo o sistema reprodutor feminino (Broughton e Moley, 2017). Apesar da manutenção da histoarquitetura geral dos ovários, a análise morfométrica revelou redução da área folicular e aumento relativo do estroma nos animais transgênicos, indicando possível comprometimento da dinâmica folicular. Esses achados são compatíveis com estudos que demonstram que alterações metabólicas, especialmente a hiperlipidemia, podem afetar a foliculogênese e a qualidade oocitária (Patel e Shash, 2018).

A diminuição da proporção de folículos pode estar relacionada a alterações no microambiente ovariano, incluindo estresse oxidativo, inflamação local e disfunção mitocondrial, mecanismos frequentemente associados à lipotoxicidade. Tais alterações podem comprometer a viabilidade dos folículos e favorecer o remodelamento do estroma ovariano.

Adicionalmente, o aumento da área estromal observado nos animais transgênicos pode refletir processos adaptativos ou patológicos, como fibrose, infiltração lipídica ou alterações na matriz extracelular.

Considerando a associação entre dislipidemia, envelhecimento e histórico reprodutivo, os resultados sugerem que a exposição crônica à hipertrigliceridemia pode contribuir para alterações estruturais ovarianas, mesmo na ausência de alterações histológicas evidentes em nível qualitativo. Dessa forma, a análise morfométrica mostra-se essencial para a detecção de mudanças sutis na organização tecidual.

CONCLUSÃO

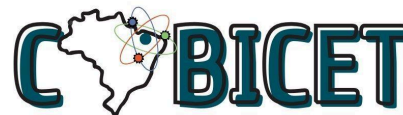
Os resultados indicam que a hipertrigliceridemia induzida pela superexpressão da apoCIII está associada a alterações morfométricas ovarianas, caracterizadas pela redução da área folicular e aumento do estroma, mesmo na presença de histoarquitetura preservada. Esses achados sugerem que a dislipidemia crônica pode comprometer a dinâmica folicular e a homeostase do tecido ovariano, especialmente em associação ao envelhecimento e à multiparidade.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá pela infraestrutura e fomento à pesquisa. Ao Departamento de Morfologia (DCM) e ao Laboratório de Anatomia Humana pelo suporte à realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ARAKI, S.; OKAZAKI, M.; GOTO, S. Impaired lipid metabolism in aged mice as revealed by fasting-induced expression of apolipoprotein mRNAs in the liver and changes in serum lipids. *Gerontology*, v. 50, n. 4, p. 206-215, 2004.
- BENJAMIN, E. J. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics—2017 Update: A Report from the American Heart Association. *Circulation*, v. 135, n. 10, p. 146–603, 2017.
- BROUGHTON D. E.; MOLEY K. H. Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. *Fertility and Sterility*, v. 107, p. 840-847, 2017.
- CURI, R. *et al.* Entendendo a gordura: os ácidos graxos. Editora Manole, Barueri, 2001.
- FEINGOLD, K. R. *et al.* Introduction to Lipids and Lipoproteins. Endotext, South Dartmouth (MA), 2018.



LEE, H. Y. *et al.* Apolipoprotein CIII overexpressing mice are predisposed to diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. *Hepatology*, v. 54, n. 5, p. 1650-1660, 2011.

MINIHANE, A. M. *et al.* Sex and *APOC3* genetic variation as regulators of lipid metabolism and their relevance to age-related disease. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 18, n. 11, p. 660-675, 2022.

PATEL, S.; SHAH, K. High-fat diet induces metabolic and reproductive dysfunction in female rats: a model for polycystic ovary syndrome. *Journal of Endocrinology*, v. 238, n. 2, p. 153–165, 2018.

SALERNO, A. G. *et al.* Overexpression of apolipoprotein CIII increases and CETP reverses diet-induced obesity in transgenic mice. *Int J Obes (Lond)*, v. 31, n. 10, p. 1586-1595, 2007.

SPITLER, K. M.; DAVIES, B. S. J. Aging and plasma triglyceride metabolism. *Journal of Lipid Research*, v. 61, n. 8, p. 1161-1167, 2020.

WEIBEL, E. R. *et al.* Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biology*, v., n.30, p. 38, 1966.