

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica
ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

HIPOESTROGENISMO E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM RATAS WISTAR¹

HYPOESTROGENISM AND BODY COMPOSITION IN WISTAR RATS

Ana Paula Weber Fell², Ana Gabriela Tamiozzo³, João Vinícius Müller Kaufmann⁴, Thiago
Gomes Heck⁵, Brenda da Silva⁶, Evelise Moraes Berlezi⁷

¹ Monografia de Conclusão do Curso de Graduação em Fisioterapia*

² Aluna do Curso de graduação em Farmácia da UNIJUÍ. ana.fell@sou.unijui.edu.br

³ *Fisioterapeuta, Grupo de Pesquisa em Envelhecimento Humano, Departamento de Ciências da Vida, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí-RS. anatumiozzo2010@hotmail.com

⁴ Aluno do Curso de Graduação em Farmácia da UNIJUÍ, bolsista PIBIC/CNPq, Grupo de Pesquisa em Fisiologia ? GPeF. joaovmkauermann@gmail.com

⁵ Docente do Programa de Pós-Graduação em em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS). Departamento de Ciências da Vida (DCVida). Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ). Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF. thiago.heck@unijui.edu.br.

⁶ Biomédica, Mestre em Atenção Integral à Saúde, Departamento de Ciências da Vida, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí-RS. brenda.s@sou.unijui.edu.br

⁷ Fisioterapeuta, Doutora em Gerontologia Biomédica, docente do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI. Coordenadora do projeto Envelhecimento Feminino. Líder do Grupo de pesquisa em envelhecimento humano. GERON/UNIJUÍ. evelise@unijui.edu.br

INTRODUÇÃO

De acordo com a projeção do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2020) a atual expectativa de vida ao nascer de uma mulher é de 80,25 anos, sujeitando boa parte da vida das mulheres aos efeitos gerados pelo climatério. Esta fase ocorre geralmente entre os 40 e 65 anos das mulheres, corresponde à transição do ciclo produtivo para o não produtivo, sendo marcada pela menopausa que é caracterizada pela interrupção de 12 meses da menstruação (BRASIL, 2016). A menopausa é o período da vida da mulher em que ocorre a falência ovariana e cessação da produção de estrogênio o que acarreta alterações fisiológicas como irritabilidade, diminuição da densidade óssea, fogaços, dispneia, fadiga, ansiedade, dentre outros (HALL, 2017). Além disso, após a menopausa as mulheres apresentam aumento de peso, elevação da deposição de gordura abdominal, alteração no metabolismo lipídico do fígado e aumento dos níveis de lipoproteínas séricas (DAVIS et al., 2012; PIMENTA et al., 2013; PALMASIANO et al., 2017). Ocorre também um conjunto de anormalidades que se relacionam entre si durante a menopausa, a chamada síndrome metabólica, que inclui distúrbios da homeostase da glicose, resistência à insulina, elevação do peso corporal, acúmulo de gordura na região abdominal, dislipidemia e hipertensão. Pessoas com síndrome metabólica apresentam maiores chances para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes do tipo 2 (FAULDS et al., 2012). Neste contexto, o modelo animal de menopausa permite compreender de maneira fidedigna as alterações nos processos fisiológicos, devido à proximidade entre os sistemas biológico animal e humano, a partir disto Ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) vem sendo empregadas em estudos pré-clínicos de modo a elucidar os efeitos da senescência biológica causada pela menopausa, que não seriam facilmente acessíveis em humanos. Deste modo o presente estudo objetivou estudar os efeitos da menopausa sobre parâmetros lipídicos e de composição corporal em um modelo animal de menopausa.

Palavras-chave: Ovariectomia; Modelo Animal ; Menopausa.

Keywords: Ovariectomy; Animal Model; Menopause.

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

METODOLOGIA

Essa pesquisa foi desenvolvida em uma abordagem experimental a partir de modelo animal de menopausa e foi realizado de acordo com as recomendações das Normas Internacionais de Proteção aos Animais (Hoff 1980) e do Código Brasileiro de Experimentação Animal – 1988, em conformidade com o Guia de Cuidados e Utilização de Animais de Laboratório do *National Institutes of Health* (NIH). **Animais:** foram utilizados 21 ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), adultas com 32 semanas de idade, provenientes do biotério da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ). Os animais foram mantidos sob ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura ambiente de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, alimentados *ad libitum* com ração comercial padrão para ratos de laboratório, NUVILAB e com livre acesso a água. **Detalhamento do experimento:** Os animais foram divididos em 2 grupos experimentais: Grupo SHAM (G1): animais foram submetidos à falsa cirurgia (n=9) e Grupo OVX (G2): animais submetidos à intervenção cirúrgica com remoção bilateral dos ovários (n=12). **Ovariectomia:** o procedimento cirúrgico foi realizado pela médica veterinária do Hospital Veterinário da UNIJUÍ, em campo estéril, no bloco cirúrgico do Hospital Veterinário desta Universidade. Para esse procedimento os animais foram submetidos à anestesia utilizando o **protocolo farmacológico:** Medicação pré-anestésica: Petidina 15 mg/kg pela via intraperitoneal, Indução: Isoflurano a 4% inalatório, Manutenção: Isoflurano a 2% inalatório, e Pós-cirúrgico: Meloxicam 2mg/kg logo após o fim do procedimento e 24 horas por via subcutânea. **Parâmetros avaliados:** as medidas referentes ao IMC, circunferência torácica e abdominal foram embasadas no protocolo de Novelli et al., 2007, utilizando-se fita métrica inextensível. A verificação do peso corporal foi realizada a cada 15 dias as medidas murinométricas foram realizadas 90 dias após a intervenção cirúrgica, para comparação entre grupos. O **Índice de Lee** foi obtido a partir da raiz cúbica do peso corporal (g) / comprimento naso-anal (cm). Segundo Bernardis (1970) o ponto de corte deste parâmetro para determinar obesidade é de até 0,30. A **Relação abdômen/tórax (RAT)** foi calculada através da fórmula $\text{RAT} = \frac{\text{Circunferência abdominal (CA)}}{\text{circunferência torácica (CT)}}$ e expressa em centímetros (cm). O **Índice de Massa Corporal (IMC)** foi obtido pela fórmula $\text{IMC} = \frac{\text{Peso (g)}}{\text{comprimento naso-anal (cm)}^2}$. O ponto de corte estabelecido para este indicador varia entre 0,45 e 0,68 g/cm² e ele apresenta diferença significativa de forma mais precoce para a identificação da obesidade (NOVELLI et al., 2007). Para análise do **perfil lipídico** Colesterol Total (CT) Frações (LDL, VLDL, HDL) e Triglicerídeos foi realizada metodologia colorimétrica com dosagens diretas, utilizando kits comerciais Bioclin - Quibasa e realizadas através da automação BS200-Mindray, utilizando-se soro coletado através de punção caudal. O **Teste de tolerância à glicose (GTT)** realizado 90 dias após a intervenção cirúrgica. Para a realização dos testes os animais estavam em jejum de 12 horas e foi preparada uma solução de glicose 80% (m/v), administrada na dose de 1g/kg, por via intraperitoneal. Para a obtenção da curva glicêmica, o valor da glicemia em jejum foi mensurado no tempo zero e nos tempos de 15, 30 e 120 minutos após a injeção de glicose. As medidas da glicemia foram feitas com sangue total em punção na veia lateral da cauda dos animais, usando aparelho de leitura glicêmica capilar, glicosímetro On Call Plus. Os dados foram expressos em mg/dL. A área sob a curva relativa a curva de resposta glicêmica foi calculada geometricamente através da aplicação da regra trapezoidal (Usa Fao 1997). **Análise estatística:** As variáveis em estudo foi apresentados como média±DP. Considerando o intervalo de confiança de 95%, e $P < 0,05$ como nível de significância. Este estudo faz parte de um trabalho maior intitulado “EFEITOS DA INFUSÃO DE *Morus alba* EM MARCADORES BIOQUÍMICOS, HEMATOLÓGICOS E NO COMPORTAMENTO EM RATAS OVARIECTOMIZADAS” os resultados são oriundos do Trabalho de Conclusão de Curso de Fisioterapia intitulado “AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA PRIVAÇÃO DE ESTROGÊNIO

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

SOBRE PAR METROS BIOQUÍMICOS E DE COMPOSIÇÃO CORPORAL EM RATAS WISTAR” (2020).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do peso corporal pré-procedimento e pós procedimento cirúrgico o grupo SHAM partiu de 278,4±38,1 para 292,9±37,1 gramas enquanto que o grupo OVX tinha 267,3±30,1 para 330,7±39,5 gramas ($p = 0,002$). Esses dados corroboram com descrito por Gilbert e Ryan (2014), onde observou-se alteração no ganho de peso dos animais OVX em relação aos animais do grupo SHAM.

O índice de Lee no grupo SHAM foi de 0,2872±0,006598 e para o OVX de 0,3018±0,004792 g/cm ($p= 0,009$) evidenciando-se indícios de obesidade no grupo OVX de acordo com o ponto de corte adotado. A determinação da relação abdômen/tórax (RAT) demonstrou para o grupo SHAM foi de 1,09±0,09091 cm e para o OVX 1,10±0,04007 cm ($p= 0,635$). No que se refere ao IMC o grupo OVX apresentou valores maiores, condizente com seu aumento de peso corporal, observou-se que o grupo SHAM apresentou 0,5277±0,305 g/cm² e do grupo OVX de 0,6136±0,02064 g/cm², ($p= 0,0001$).

O estrogênio atua ativando receptores estrogênicos alfa e/ou beta no hipotálamo, que desempenham importante influência no controle de ingestão alimentar e saciedade (ROEPKE, 2009). Em decorrência disso, durante o climatério podem acontecer alterações no consumo alimentar, consequentemente, interferindo positivamente no ganho de peso. Ainda, o estrogênio modula a produção do Ácido Ribonucleico mensageiro (RNAm) do receptor de leptina em diferentes centros hipotalâmicos aumentando a sensibilidade da glândula à leptina, alterando deste modo a distribuição de gordura periférica (CHAKRABORTY et al., 2008).

Na análise do perfil lipídico evidenciou-se que os valores de Colesterol o grupo SHAM eram de 170±39,57 mg/dL e o grupo OVX 152,9±57,11 mg/dL, para os triglicerídeos 213,4±44,85 mg/dL para o grupo SHAM e 205±44,13 mg/dL para o grupo OVX. Não observamos alteração nos valores de colesterol e triglicerídeos entre os grupos. Estes dados corroboram com o descrito por Goettems-Fiorin et al., (2019) onde, não evidenciou-se alterações no perfil lipídico de animais OVX em relação ao grupo SHAM tratados com dieta normolipidêmica. Contudo, Kato et al., (2009) concluiu que ovariectomia promoveu aumento das concentrações de lipídios e colesterol comparado ao grupo SHAM, entretanto este resultado pode ser justificado pela dieta hiperlipidêmicas que ratas foram submetidas.

Para o teste de tolerância a glicose no tempo zero observou-se que ambos os grupos apresentaram níveis glicêmicos muito próximos, sendo observado um pico glicêmico já no tempo de 15 minutos em ambos os grupos SHAM 128±36,58 mg/dL e grupo OVX 137,5±29,09 mg/dL, sendo que os níveis glicêmicos retornaram próximos aos valores basais SHAM 61±4,35 mg/dL e grupo OVX 64,5±7,43 mg/dL. Esses dados corroboram com os resultados evidenciados por Goettems-Fiorin et al., (2019), onde a resposta ao GTT foi semelhante nos animais OVX e SHAM, não evidenciando alterações na glicemia entre os grupos causadas pela cessação da produção ovariana de estrogênio.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ovariectomia promoveu efeitos semelhantes aos observados durante a menopausa feminina. Os parâmetros bioquímicos e biométricos analisados mostraram-se semelhantes aos apresentados na literatura, entretanto alguns desses achados apresentam-se controversos. Os dados evidenciados neste estudo tornam claro que a cessação da produção de estrogênio pelos folículos ovarianos está intimamente envolvida na alteração da deposição de gordura, embora não aconteçam alterações o

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

perfil lipídico em animais OVX. Similarmente ao que acontece em mulheres menopausadas, estes achados tornam-se importantes especialmente devido ao alto risco que a obesidade representa para o desenvolvimento de doenças crônicas o que reforça a necessidade da prevenção e cuidados das mulheres na fase do climatério.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDIS, L.L. Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's nutritive ratio in rats with hypothalamic obesity. **Experientia**, 789-90 (26), 1970.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolos da Atenção Básica** : Saúde das Mulheres / Ministério da Saúde, Instituto Sírio-Libanês de Ensino e Pesquisa – Brasília : Ministério da Saúde, 2016.

CHAKRABORTY, S.; SACHDEV, A.; SALTON, S. R. J.; CHAKRABORTY, T. R. Stereological analysis of estrogen receptor expression in the hypothalamic arcuate nucleus of ob/ob and agouti mice. **Brain Research**, 1217, p. 86-95, 2008/06/27/ 2008.

DAVIS S. R.; CASTELO-BRANCO C.; CHEDRAUI P.; LUMSDEN M. A.; NAPPI R. E.; SHAH D.; VILLASECA P. Entendendo o ganho de peso na menopausa. **Climatério: o jornal da Sociedade Internacional da Menopausa**. 2012a; 15 : 419-429.

FAULDS, M., ZHAO, C., DAHLMAN-WRIGHT, K. E GUSTAFSSON, J. A diversidade da ação de esteróides sexuais: regulação do metabolismo por sinalização de estrogênio. **Journal of Endocrinology**, 212 (1), 3-12, 2012. Disponível em: <<https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/212/1/3.xml>>

GILBERT EL, RYAN MJ. **Impacto da ovariectomia precoce na pressão arterial e composição corporal em um modelo de camundongo fêmea com lúpus eritematoso sistêmico**. *Sou J Physiol Regul Integr Comp Physiol* . 2014.

Goettems-Fiorin, P.B., Costa-Beber, L.C., Dos Santos, J.B., Friske, P.T., Sulzbacher, L.M., Frizzo, M.N., Ludwig, M.S., Rhoden, C.R., Heck, T.G., 2019. Ovariectomy predisposes female rats to fine particulate matter exposure's effects by altering metabolic, oxidative, proinflammatory, and heat-shock protein levels. **Environmental science and pollution research international** 26, 20581-20594.

HALL, John E. **Tratado de fisiologia médica** - 13. ed. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2020. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html?utm_source=portal&utm_medium=popclock&utm_campaign=novo_popclock.

Acessado em 06 de junho de 2020.

KATO, M., OGAWA, H., KISHIDA, T. E EBIHARA, K. Mecanismo do efeito redutor do colesterol da proteína de peixe insolúvel em água em ratos ovariectomizados. **British Journal of Nutrition**, 2009.

NOVELLI, E. L.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M.; EBAID, G. M.; RODRIGUES, H.G.; MANI, F. **Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats**. *Laboratory animals*. 2007;41(1):111-9.

PALMISANO BT, ZHU L, STAFFORD JM. Papel dos estrógenos na regulação do metabolismo lipídico do fígado. **Adv Exp Med Biol** . 2017; 1043: 227-256. doi: 10.1007 / 978-3-319-70178-3_12. PMID: 29224098; PMCID: PMC5763482.

PIMENTA F; MAROCO JO; RAMOS C; LEAL I. Preditores de variação de peso e ganho de peso em mulheres na pré e pós-menopausa. **Jornal de psicologia da saúde**. 2013.

ROEPKE, T. A. Oestrogen modulates hypothalamic control of energy homeostasis through multiple mechanisms. **Journal of neuroendocrinology**, 21, n. 2, p. 141-150, 2009.



Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica
ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

Parecer CEUA: 003/2019

Parecer CEUA: 84431118200005350