

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

EFEITO DA PRIVAÇÃO DE ESTROGÊNIO SOBRE O PESO CORPÓREO E O CONSUMO ALIMENTAR EM ANIMAIS EXPOSTOS AO ROFA¹
EFFECT OF ESTROGEN DEPRIVATION ON BODY WEIGHT AND FOOD CONSUMPTION IN ANIMALS EXPOSED TO ROFA

Paula Taís Friske², Jaíne Borges Dos Santos³, Eloisa Gabriela De Pelegrin Basso⁴, Thiago Gomes Heck⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Pauline Brendler Goettens Fiorin⁷

¹ Pesquisa desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Departamento de Ciências da Vida - UNIJUI

² Acadêmica do Curso de Nutrição - UNIJUI, Bolsista PIBIC/UNIJUI, Grupo de Pesquisa em Fisiologia/GPeF

³ Acadêmica do curso de Enfermagem - UNIJUI, Bolsista PIBIC/CNPq, Grupo de Pesquisa em Fisiologia/GPeF

⁴ Mestranda no Programa de Pós-Graduação Ciências da Saúde - UFCSPA

⁵ Docente do DCVida. Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde UNICRUZ/UNIJUI

⁶ Docente do DCVida. Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde UNICRUZ/UNIJUI

⁷ Orientadora. Docente do Departamento de Ciências da Vida-UNIJUI, Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - UFCSPA

Introdução

Ao longo do processo de envelhecimento ocorrem diversas mudanças fisiológicas na vida das mulheres, sendo uma delas a menopausa. A menopausa se deve a falência ovariana, caracterizada pela diminuição gradual da secreção de estrogênio e alterações relacionadas com hormônios sexuais (MENDOZA; ZAMARRIPA, 2013).

O estrogênio é um dos mais importantes hormônios do organismo feminino, ele é produzido principalmente nos ovários e atua como regulador da função sexual e reprodutiva. Durante a vida reprodutiva da mulher, a principal forma de estrogênio circulante é o 17 β -estradiol (E2), uma molécula de sinalização sistêmica (RETTBERG; et al., 2014). O E2 regula e coordena múltiplas funções em órgãos, células e genes, apresentando propriedades vasodilatadoras, antioxidantes e desempenha função de regulação metabólica, em especial nos tecidos adiposo, muscular esquelético e cardiovascular (KIM, 2012; MEYER et al., 2014; PELLEGRINI; YAO; BRINTON, 2014).

A queda dos níveis do estrogênio, pela falência ovariana, natural ou induzida (ovariectomia), pode ocasionar distúrbios no perfil redox, com consequente efeito sob a regulação metabólica (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2012), por meio do aumento no armazenamento de gordura na forma de tecido adiposo e ganho de peso corpóreo (SANTOSA; JENSEN, 2013).

Outro importante fator que reconhecidamente pode causar distúrbios na regulação metabólica é a inalação de poluentes, sendo que um dos grandes problemas da saúde atual são as mortes causadas por doenças relacionadas à exposição a poluição atmosférica, por meio de doenças

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

respiratórias, cardíacas e outras (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006). Dentre os muitos tipos de poluentes atmosféricos, se destaca o Residual Oil Fly-Ash (ROFA), um tipo de material particulado, resíduo da queima do óleo diesel, que pode conter compostos de carbono, nitrogênio e metais (BISELLI et al., 2011). O ROFA pode ser facilmente inalado, chegando até os alvéolos pulmonares onde pode desencadear um aumento de moléculas oxidantes, e assim resultar em um quadro de estresse oxidativo local, ou invadir a circulação sistêmica, afetando outros tecidos (GOETTEMES-FIORIN et al., 2016; MAI et al., 2017).

Diante dessas informações, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da privação de estrogênio sobre o perfil biométrico, consumo alimentar e peso de tecidos metabólicos em animais expostos previamente ao ROFA.

Metodologia

Animais: foram utilizadas 24 ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) nulíparas, com 60 dias de vida, provenientes do biotério da UNIJUI. Os animais foram mantidos sob condições ideais para animais de laboratório, sendo acondicionados em gaiolas semimetabólicas, com ciclo claro/escuro de 12 horas, com temperatura $24 \pm 2^\circ\text{C}$, recebendo água e ração padrão (Nuvilab CR-1) ad libitum. Projeto aprovado pelo CEUA/UNIJUI (076/15).

Detalhamento do experimento: Os animais foram inicialmente divididos em dois grupos ($n=12/\text{grupo}$): C (Controle) e P (Poluído). Na 12ª semana de estudo, os animais receberam mais uma intervenção. Metade de cada grupo foi submetida a ovariectomia (OVX), e outra metade a falsa cirurgia (sham), dando origem a quatro grupos ($n=6/\text{grupo}$): 1) Instilação de Salina (C); 2) Instilação de ROFA (P); 3) Instilação de Salina + ovariectomia (OVX) e 4) Instilação de ROFA + ovariectomia (P+OVX). As demais intervenções continuaram até completar 24 semanas de estudo.

ROFA: O poluente utilizado foi o ROFA, material particulado fino (MP_{2,5}), com partículas ressuspensas em solução fisiológica, na dose de $250\mu\text{g}/50\mu\text{L}$. A instilação intranasal foi realizada com micropipeta automática, desprezando $50\mu\text{L}$ da suspensão (ou de solução fisiológica) na narina do animal, promovendo reflexo de apneia seguida de inspiração profunda, a qual impulsiona o líquido para os pulmões (MEDEIROS et al., 2004). O processo de instilação foi realizado 5 vezes por semana, uma vez ao dia, sempre no mesmo turno, durante as 24 semanas de estudo.

Ovariectomia: consistiu da retirada bilateral de ovários. A falsa cirurgia consistiu da exposição dos ovários com consecutivo reposicionamento para posterior sutura, que tem como finalidade submeter os animais ao mesmo estresse cirúrgico que os grupos ovariectomizados. Utilizou-se o seguinte protocolo cirúrgico: Medicação pré-anestésica: morfina 5 mg/kg via intraperitoneal (i.p.); Indução da anestesia: isoflurano a 4%; Manutenção da anestesia: isoflurano a 2%; Pós-operatório: meloxicam 0,2% (2 mg/kg) subcutâneo após 24 horas. As cirurgias foram realizadas no Hospital Veterinário da UNIJUI pelo médico veterinário responsável.

Controle do consumo de ração e água: o controle de consumo foi realizado semanalmente, com posterior cálculo da relação entre a oferta e o consumo de ração e água: $(\text{oferta total/caixa} - \text{consumo total/caixa}) / n^\circ \text{ de animais por caixa}$.

Perfil biométrico: foi realizado na 24ª semana de experimento. O peso corpóreo foi verificado em balança semi-analítica.

Coleta do material biológico: foi realizada ao final das 24 semanas. Fígado, músculo sóleo e

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

gastrocnêmio, tecido adiposo e pâncreas foram retirados, imediatamente pesados em balança semi-analítica, congelados em nitrogênio líquido e armazenado em freezer a 2 a -4º. Foi calculada a porcentagem da relação do peso do tecido com o peso total do animal.

Análise estatística: foi realizada por Análise de Variância (ANOVA) de uma via, com pós teste de Tukey ou Dunnet, no programa estatístico GraphPad 5.0, e adotamos $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Investigamos se a privação de estrogênio, induzida pela OVX, poderia elevar o peso corporal dos animais expostos previamente ao ROFA. Assim, ao analisarmos os dados referentes a 24ª semana de estudo, verificamos que não houve diferença do peso corporal (Fig. 1A) entre os grupos experimentais. Também não houve diferenças no consumo alimentar (Fig. 1B) e hídrico (Fig. 1C).

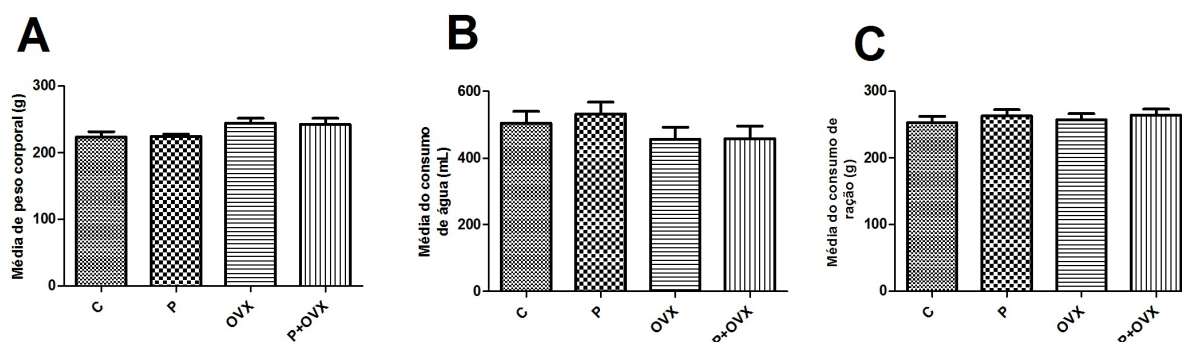


Fig. 1 Efeito da privação de estrogênio sobre o peso corporal, consumo alimentar e consumo de água de ratas expostas ao ROFA. A) Efeito da privação de estrogênio sobre o peso corporal de ratas expostas ao ROFA na 24ª semana de estudo ($P = 0,100$). **B)** Efeito da privação de estrogênio sobre o Média do consumo de ração em gramas durante as 24 semanas de estudo ($P = 0,812$). **C)** Média do consumo de água em mL durante as 24 semanas de estudo ($P = 0,372$).

Na ausência de diferenças no peso corporal total, buscamos investigar se a ovariectomia poderia comprometer a composição corporal de animais expostos ao ROFA. Para tal, analisamos a adiposidade dos animais através da relação da porcentagem de peso do tecido adiposo branco em relação ao peso corporal final (Fig. 2A). Observamos que não houve diferença entre os grupos quanto a adiposidade, bem como, na massa de tecidos metabólicos, como o músculo gastrocnêmio (Fig. 2B) e o pâncreas (Fig. 2C). No entanto, observamos que o percentual do peso do fígado em relação ao peso corporal final (Fig. 2D) é menor nos animais ovariectomizados (OVX), e o mesmo ocorre com o peso do sóleo (Fig. 2E).

Efeitos similares da ovariectomia já foram encontrados na composição muscular do reto femoral. O estudo de Moreira et al., 2005 observou mudança no padrão e um menor número das miofibrilas, mostrando que a ovariectomia alterou a disposição estrutural das miofibrilas e reduziu

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

o tamanho do músculo. Esse dado pode justificar o resultado da porcentagem de peso do sóleo em relação peso corporal final encontrado no nosso estudo.

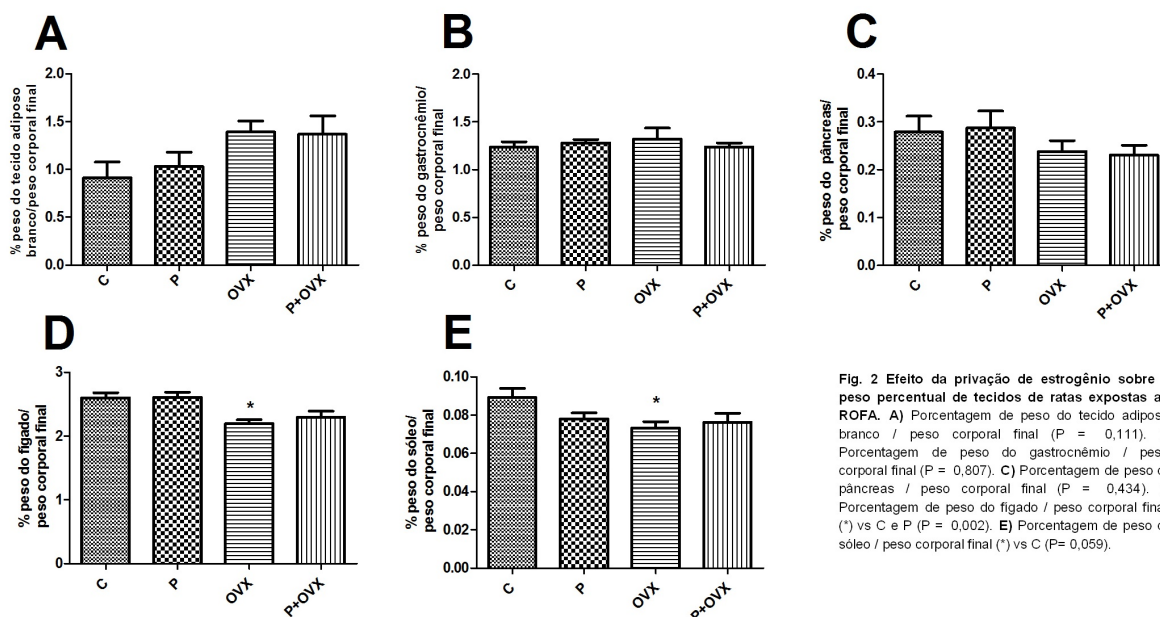


Fig. 2 Efeito da privação de estrogênio sobre o peso percentual de tecidos de ratas expostas ao ROFA. A) Porcentagem de peso do tecido adiposo branco / peso corporal final ($P = 0,111$). B) Porcentagem de peso do gastrocnêmio / peso corporal final ($P = 0,807$). C) Porcentagem de peso do pâncreas / peso corporal final ($P = 0,434$). D) Porcentagem de peso do fígado / peso corporal final (*) vs C e P ($P = 0,002$). E) Porcentagem de peso do sóleo / peso corporal final (*) vs C ($P = 0,059$).

Os efeitos da ovariectomia sobre o peso hepático permanece controverso. O estudo de Trujillo et al., 2011 observou que o volume médio do fígado de ratas ovariectomizadas foi maior do que das ratas controle. Entretanto, não verificamos isso no nosso estudo, onde o peso do fígado foi menor nas ratas ovariectomizadas quando comparado ao controle. Já em outro estudo, semelhante ao nosso, foi observado que a ovariectomia resultou em uma redução significativa no peso relativo do fígado, enquanto a reposição de estrogênio impediu a redução do peso hepático induzida pela ovariectomia. Reforçando a ideia de que esta diminuição do peso do fígado se deve a privação de estrogênio na condição de ovariectomia (SHINODA; LATOUR; LAVOIE, 2002). O fígado de roedores ovariectomizados (OVX) apresentam acréscimos consideráveis no conteúdo de lipídeos, o que pode causar uma redução global no peso do tecido, e, além disso, a redução nos níveis de estrogênio causa um desequilíbrio no perfil redox do fígado e aumentam a suscetibilidade às doenças metabólicas observadas após a menopausa (OLIVEIRA et al., 2018). Entretanto, ainda são necessários mais estudos para elucidar os mecanismos celulares que refletem a perda de peso hepático com a redução nos níveis de estrogênio, bem como, o reflexo destas sutis alterações biométricas sob as condições metabólicas.

Considerações Finais

A privação do estrogênio não altera o perfil biométrico e consumo alimentar dos animais expostos ao ROFA, mas reduz a porcentagem de massa hepática e muscular, sugerindo possíveis alterações metabólicas subsequentes

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

Palavras-chaves: Menopausa; Poluentes Atmosféricos; Composição Corporal.

Keywords: Menopause; Air Pollutants; Body Composition.

Referências

- BISELLI, P. J. C. et al. Short-term exposure of mice to cigarette smoke and/or residual oil fly ash produces proximal airspace enlargements and airway epithelium remodeling. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 5, p. 460-468, 2011.
- KIM, C. Does menopause increase diabetes risk? Strategies for diabetes prevention in midlife women. **Women's Health**, v. 8, p. 155-167, 2012.
- MEDEIROS, N. et al. Acute pulmonary and hematological effects of two types of particle surrogates are influenced by their elemental composition. **Environmental Research**, v. 95, n. 1, p. 62-70, 2004.
- MENDOZA, C. C. C.; ZAMARRIPA, C. A. J. Menopause Induces Oxidative Stress. **Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants**, n. Figure 1, p. 289-316, 2013.
- MEYER, M. R. et al. G protein-coupled estrogen receptor protects from atherosclerosis. **Scientific Reports**, v. 4, 2014.
- MOREIRA, M. D. A. et al. Estudo histomorfométrico do músculo esquelético de ratos em anestro. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 329-335, 2005.
- OLIVEIRA, M. C. DE et al. A Long-term Estrogen Deficiency in Ovariectomized Mice is Associated with Disturbances in Fatty Acid Oxidation and Oxidative Stress. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 2018, 40 (5): 251-259.
- PELLEGRINI, M. et al. Naringenin modulates skeletal muscle differentiation via estrogen receptor α and β signal pathway regulation. **Genes & Nutrition**, v. 9, n. 5, p. 425, 2014.
- RETTBERG, J. R.; YAO, J.; BRINTON, R. D. Estrogen: A master regulator of bioenergetic systems in the brain and body. **Front Neuroendocrinol.**, v. 19, n. 1, p. 389-399, 2014.
- SANTOSA, S.; JENSEN, M. D. Adipocyte fatty acid storage factors enhance subcutaneous fat storage in postmenopausal women. **Diabetes**, v. 62, n. 3, p. 775-782, 2013.
- SHINODA, M.; LATOUR, M. G.; LAVOIE, J.-M. Effects of physical training on body composition and organ weights in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **International journal of obesity and related metabolic disorders** . v. 26, n. 3, p. 335-43, 2002.
- TRUJILLO, E.; VÁSQUEZ, B.; DEL SOL, M. Características Estereológicas del Hígado de Rata (*Rattus norvegicus*) sometidas a Menopausia Inducida por Ovariectomía. **International Journal of Morphology**, v. 29, n. 4, p. 1470-1478, 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide: global update 2005: summary of risk assessment. **Geneva: World Health Organization**, p. 1-22, 2006.