

## EFEITOS DA INSULINEMIA NO INÍCIO DA VIDA SOBRE METABOLISMO DE RATOS ADULTOS

Renan de Oliveira Venci (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Paulo Cezar de Freitas Mathias (Orientador), e-mail: pcfmathias@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular / Laboratório de Biologia Celular da Secreção / Maringá, PR.

**Área do conhecimento: Ciências Biológicas. Sub-área do conhecimento: Fisiologia**

**Palavras-chave:** Programação Metabólica, Insulina, Buscopan

### Resumo:

As agressões durante fases importantes para o desenvolvimento do sistema nervoso central é uma das origens das doenças não comunicáveis, por exemplo, ratos com um quadro de hiperinsulinemia. Objetivamos avaliar os efeitos dos níveis de insulina durante o início da vida sobre o metabolismo de ratos na vida adulta. Ratos Wistar machos foram divididos em 4 grupos que receberam injeções intraperitoneais durante os primeiros 12 dias vida: grupo C (receberam solução salina 0,9%); grupo B (receberam Buscopan na dose de 0,5 mg/Kg de peso corporal); grupo I (receberam insulina Glargina exógena na dose de 0,5U/Kg de peso corporal); grupo I+B (receberam uma mistura de Buscopan e insulina Glargina nas mesmas doses acima). Aos 90 dias os procedimentos experimentais foram realizados. Ratos submetidos aos diferentes tratamentos não apresentaram diferenças significativas nos parâmetros biométricos avaliados.

### Introdução

É conhecido que agressões (que podem ser de natureza nutricional, química, física ou biológica) durante fases importantes para o desenvolvimento do sistema nervoso central, como: gestação, lactação, infância e adolescência, é uma das origens de doenças não comunicáveis como as cardiometabólicas, neurodegenerativas e alguns tipos de câncer (XU et al., 2007). Por exemplo, sabe-se que ratos induzidos a um quadro de hiperinsulinemia no início da vida se tornam sobrepesados na vida adulta (HARDER et al., 1999). Em contrapartida, quando administrado em ratos no início da vida, o Buscopan (butilbrometo de escopolamina) diminui a secreção de insulina e pode proteger o animal de futuras disfunções metabólicas relacionadas a obesidade (MALTA et al., 2016). Também foi mostrado que durante a restrição proteica de mães que estavam amamentando, seus filhotes apresentaram baixos níveis de insulina

(PLAGEMANN et al., 2000) e quando adultos desenvolveram um fenótipo magro (DE OLIVEIRA et al., 2011). Conhecendo essas informações levantamos a hipótese de que a programação de um fenótipo magro ou gordo na idade adulta envolve os níveis de insulina no início da vida.

## **Materiais e métodos**

Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) adultos fêmeas com 70 dias de idade e machos com 80 dias de idade fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) serão postos para cruzamento na proporção de três fêmeas para cada macho no Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular da Secreção, onde foi realizado o acompanhamento dos animais. Constatada a prenhez as fêmeas foram separadas em caixas individuais. Após o nascimento os filhotes foram divididos em 4 grupos experimentais composto por 8 filhotes/ninhada. Animais que receberam injeções de intraperitoneal (i.p) de solução, Buscopan na dose de 0,5 mg/Kg de peso corporal (Grupo buscopan; B); animais que receberam injeções i.p com insulina Glargina exógena na dose de 0,5U/Kg de peso corporal (grupo insulina; I); animais que receberam injeções i.p com uma mistura de buscopan e insulina nas mesmas dose acima descrito (grupo insulina-buscopan; I+B e os animais controles (C) que receberam solução salina 0,9% no mesmo volume durante os 12 primeiros dias de vida. Os filhotes permaneceram com as mães até os 21 dias de vida para então serem desmamados. Foi padronizado o número de 4 ratos machos por caixa para todos os grupos a fim de garantir as mesmas condições de acesso à comida e água. Os animais foram mantidos sob condições controladas de luz e temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), água e ração à vontade. Todos os procedimentos seguiram as normas da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá.

### *Avaliação do peso corporal, ingestão alimentar e gordura corporal*

A evolução ponderal e o consumo alimentar foram registrados a cada dois dias durante todo o período experimental. Os principais estoques de gordura (retroperitoneal, periepididimal, mesentérica) foram avaliados para uma estimativa do acúmulo total de gordura corporal 90 dias de vida. Para isso, os animais foram eutanasiados por superdose anestésica - Tiopental; 150mg/kg de peso corporal, via i.p.

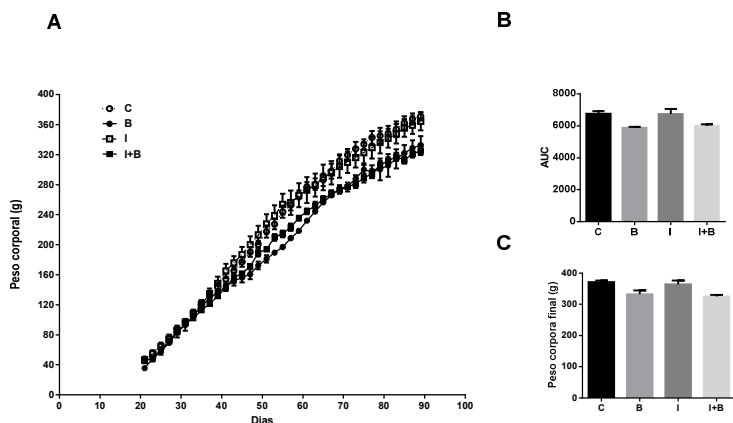
### *Análise Estatística dos Dados*

Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. Os dados foram submetidos ao teste t de Student ou a análise de variância (ANOVA) através do programa GraphPad Prism versão 6.0, usando como intervalo de confiança 95%.

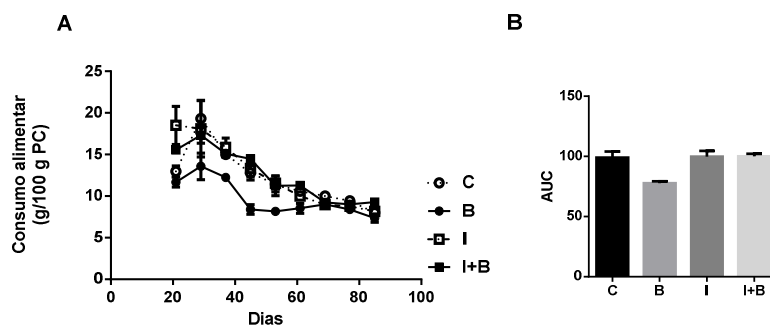
## **Resultados e Discussão**

A figura 1A mostra a evolução do peso corporal dos 21 aos 90 dias de vida. Observamos que apesar de uma tendência de redução no peso corporal do grupo B em relação ao C e uma tendência do grupo I+B em relação ao C, não encontramos diferenças significativas entre os grupos, como mostra a figura 1B. Também não encontramos diferenças entre os grupos em relação ao peso corporal final (figura 1C). A figura 2A, mostra a ingestão alimentar durante o período experimental. Observamos que também não houve diferença entre os grupos, apesar de observarmos uma redução de 21% na ingestão alimentar no grupo B em relação ao C (figura 2B). A figura 3A, B e C mostra o peso dos estoques de gordura retroperitoneal, periepididimal e mesentérica. Observamos que não houve diferença significativa entre os grupos.

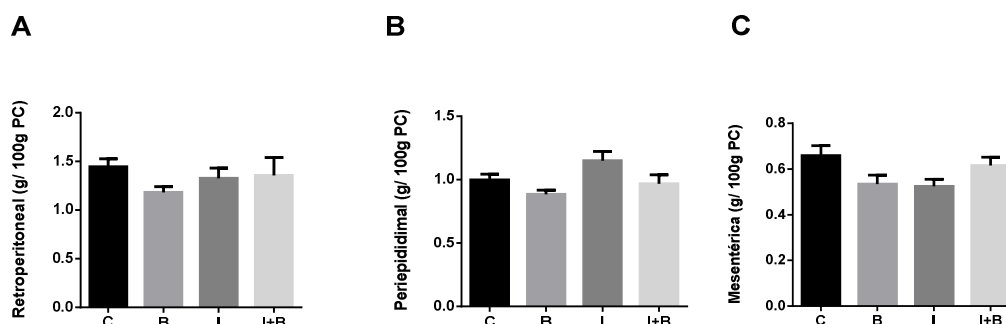
O tratamento com buscopan durante o início da vida tem sido associado com redução nos níveis de insulina e menor peso corporal na vida adulta em ratos (Malta, 2015). Podemos observar em nossos resultados uma tendência na redução do peso corporal, ingestão alimentar e nos estoques de gordura no grupo B. Ainda, estudos tem mostrado que o tratamento de insulina no início da vida provoca hiperinsulinemia e obesidade (Harder, 1998). No entanto, não observamos esse efeito nos nossos resultados e consequentemente o efeito da associação I+B também não foi observado.



**Figura 1** – A: Peso corporal da prole após a lactação (21 dias) até a eutanásia (90 dias). B: Área sob a curva do peso corporal. C: peso corporal final (aos 90 dias) de cada grupo. Legendas - C: grupo Controle, B: grupo Buscopan, I: grupo Insulina e I+B: grupo Insulina-Buscopan.



**Figura 2** – A: Consumo alimentar da prole do desmame (21 dias) até a eutanásia (90 dias). B: Área sob a curva do consumo alimentar. Legendas - C: grupo Controle, B: grupo Buscopan, I: grupo Insulina e I+B: grupo Insulina-Buscopan.



**Figura 3** – Relação do peso dos estoques de gordura da prole aos 90 dias. Legendas - C: grupo Controle, B: grupo Buscopan, I: grupo Insulina e I+B: grupo insulina-Buscopan.

## Conclusões

Podemos concluir que o tratamento com insulina exógena e buscopan não causou nenhum efeito sobre o metabolismo de ratos adultos.

## Agradecimentos

PIBIC/CNPq-FA-UEM

## Referências

DE OLIVEIRA, Júlio Cezar et al. Poor pubertal protein nutrition disturbs glucose-induced insulin secretion process in pancreatic islets and programs rats in adulthood to increase fat accumulation. **Journal of Endocrinology**, v. 216, n. 2, p. 195-206, 2013.

HARDER, T. et al. Overweight and increased diabetes susceptibility in neonatally insulin-treated adult rats. **Endocr Regul**, v. 33, n. 1, p. 25-31, 1999.

MALTA, Ananda et al. Neonatal treatment with scopolamine butylbromide prevents metabolic dysfunction in male rats. **Scientific reports**, v. 6, 2016.

PLAGEMANN, A. et al. Hypothalamic neuropeptide Y levels in weaning offspring of low-protein malnourished mother rats. **Neuropeptides**, v. 34, n. 1, p. 1-6, 2000.

XU, W.; ZHU, M. W.; LIN, J. F. Fetal growth retardation and postnatal high fat diet on the development of insulin resistance and fertility: experiment with rats. **Zhonghua yi xue za zhi**, v. 87, n. 23, p. 1633-1636, 2007.