

## EFEITOS METABÓLICOS DO ORGANOFOSFORADO ACEFATO DURANTE A VIDA PERINATAL EM PROLE FÊMEAS

Fernanda Mieko Miyashiro Yamaguchi (BOLSISTA CNPq/BALCÃO), Kelly Valério Prates (Coorientador), e-mail: kvp.86@hotmail.com. Paulo Cezar de Freitas Mathias (Orientador), e-mail: pcfmathias@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá, PR.

### Fisiologia/Fisiologia endócrina

**Palavras-chave:** Glicose, metabolismo, organofosforado

### Resumo:

De acordo com o DOHaD - Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença, fases iniciais do desenvolvimento são consideradas as mais importantes para estudos de doenças como obesidade, diabetes tipo 2 e a síndrome metabólica, essas podem causar alterações permanentes no metabolismo. O organofosforado (ORG) acefato foi muito utilizado como inseticida e seus efeitos também atingem vertebrados (como o homem), atuando diretamente na acetilcolinesterase, enzima que diminui a acetilcolina. Propomos estudar, os efeitos metabólicos do ORG acefato, durante a vida perinatal da prole de fêmeas, via exposição crônica, em dose NOAEL (menor dose sem efeitos observáveis). A hipótese é que o ORG poderá atuar como um agente que irá mal programar o metabolismo para o desenvolvimento de disfunções metabólicas na vida adulta. Um trabalho recente publicado por nosso laboratório, demonstrou que a exposição ao ORG na dose proposta, aumenta a susceptibilidade da prole de machos ao diabetes tipo 2. Aos 90 dias de vida, a prole de fêmeas do grupo ORG, apresentaram leve aumento de peso corporal acompanhado de aumento na gordura retroperitoneal. Não ocorreram modificações no consumo alimentar, bem como, na homeostase glicêmica e tolerância à insulina.

### Introdução

Um dos problemas de saúde que vêm crescendo em todo o mundo é a obesidade. Um dos fatores associados a obesidade é o desequilíbrio entre o consumo e o gasto energético. Existem agravantes, uma vez que outras doenças metabólicas podem coexistir com a obesidade, tais como o diabetes mellitus tipo 2, resistência à insulina, hiperlipidemia, bem como, doenças cardiovasculares. Em conjunto, as disfunções supracitadas caracterizam a síndrome cardiometabólica (BARELLA *et al*, 2014; de OLIVEIRA *et al*, 2012; PAES *et al*, 2015). Barker correlacionou o baixo peso ao nascer com o aparecimento de doenças cardiovasculares na vida adulta. Suas observações possibilitaram a formulação da hipótese “thrifty

phenotype”. Alterações nutricionais durante a gestação, poderiam causar modificações permanentes no metabolismo dos filhos, os quais estariam susceptíveis a disfunções cardiovasculares quando expostos a ambientes com excesso de calorias na idade adulta (BARKER, 2004; HALES & BARKER, 1992). Os organofosforados (ORGs) são inseticidas cujo mecanismo bioquímico de ação consiste na ligação e inibição irreversível da enzima acetilcolinesterase (AChE), a qual é importante na diminuição dos níveis de acetilcolina (ACh), um neurotransmissor liberado por neurônios colinérgicos. Trabalho recente de nosso laboratório demonstrou que a exposição ao acefato na vida perinatal pode programar a prole de machos, aumentando sua susceptibilidade ao diabetes mellitus tipo 2 (RIBEIRO *et al*, 2016). Contudo, não há trabalhos na literatura demonstrando os possíveis efeitos da exposição crônica ao acefato na vida perinatal em fêmeas, portanto, nossa proposta é a de verificar se a exposição ao ORG poderá programar o metabolismo da prole de fêmeas na vida adulta.

## **Materiais e métodos**

### *Delineamento experimental*

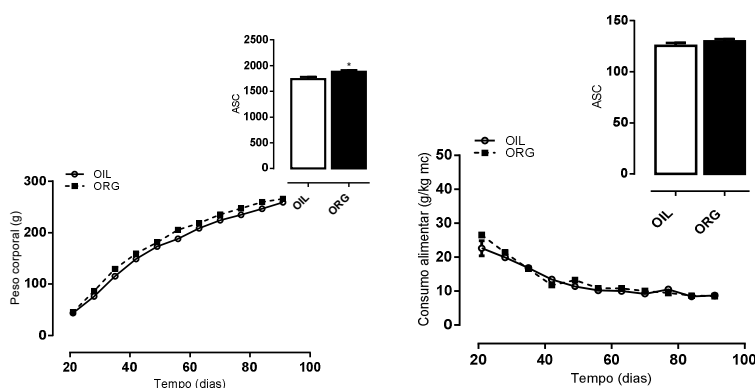
Após a detecção de prenhes, ratos fêmeas Wistar foram separados em dois grupos. As prenhas receberam óleo de milho (M-OIL) ou o organofosforado acefato (M-ORG) diluído em óleo de milho, via gavagem, na dose 2,5 mg/kg de massa corpórea. Os grupos foram tratados a partir do 7º dia de gestação até 21º dia de lactação. Após o nascimento, as proles foram ajustadas para nove filhotes por mãe, tendo um equilíbrio entre machos e fêmeas. Após o desmame, apenas as fêmeas foram utilizadas para o estudo. Aos 90 dias de vida, proles de fêmeas (grupos OIL e ORG) foram submetidos aos protocolos experimentais. Todos os protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética da UEM.

### *Evolução de peso corporal, consumo alimentar, testes in vivo e remoção de tecidos biológicos*

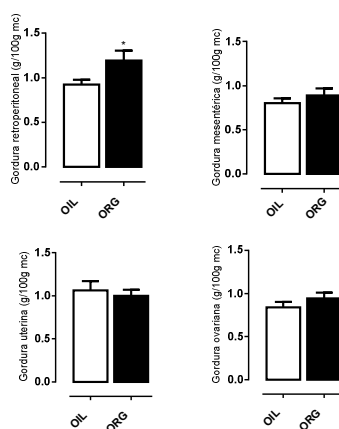
O peso corporal individual e o consumo alimentar foram mensurados três vezes por semana, a partir do desmame (21º dia de vida) até a vida adulta (90 dias). No teste de tolerância à insulina intraperitoneal (TTIip), após 6 horas de jejum, retirou-se de uma amostra de sangue (tempo 0'), posteriormente, foi aplicado insulina (1 U/kg mc) e coletado amostras nos tempos subsequentes, 15', 30', 45' e 60'. Para a realização do teste de tolerância à glicose intravenoso (TTGiv), ocorreu a implantação de uma cânula de silicone na veia jugular direita dos animais. No outro dia, após 12 horas de jejum, foram coletadas amostras de sangue nos tempos 0', e após uma carga de glicose (1 mg/kg mc), nos tempos 5', 15', 30' e 45'. Após a eutanásia, os estoques de gorduras retroperitoneal, mesentérica, uterina e ovariana foram retiradas e pesadas; os dados foram utilizados como um parâmetro de mensuração de obesidade. Para a análise estatística empregou-se o teste T de Student, valores com  $p < 0.05$  foram considerados estatisticamente significantes. O Programa estatístico utilizado foi o GraphPad Prism, versão 7.0.

## Resultados e Discussão

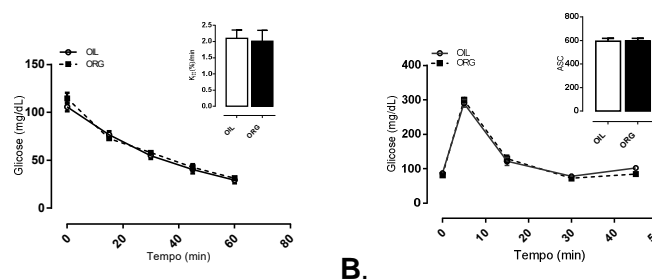
Ao nascimento, observamos uma diminuição de 10% ( $p < 0,001$ ) e 9,7% ( $p < 0,01$ ), no peso corporal das proles de fêmeas e machos, respectivamente, cujas mães foram expostas ao ORG. Nos parâmetros comprimento naso-anal e diâmetro da cabeça, não houveram diferenças nas fêmeas, porém, na prole de machos os incrementos foram de 3,52% e 3,98%, respectivamente ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ). No diâmetro abdominal, houve diminuição de 3,63% no grupo ORG em fêmeas ( $p < 0,05$ ) e 4,6% nos machos ( $p < 0,001$ ). Em roedores, é possível fazer uma relação de proporcionalidade do crescimento abdominal e cabeça (razão do diâmetro abdominal em relação ao diâmetro da cabeça); estudos demonstram que alterações nessas razões podem indicar o aumento de susceptibilidade para doenças metabólicas (GUZMAN, C. et al. 2006). Aos 90 dias, observamos aumento de 7,9% no peso do grupo ORG, porém, sem diferença no consumo alimentar (fig. 1). Também um aumento de 29,3% no acúmulo de gordura retroperitoneal ( $p < 0,05$ ) (fig.2). A figura 3 demonstra que a exposição na dose LOAEL, não causou modificações na glicemia e tolerância à insulina *in vivo*.



**Figura 1** – Evolução do peso corporal e consumo alimentar dos 21 aos 90 dias de vida. A inserção representa a área sob a curva (ASC). \* $p < 0.05$ . Teste t de Student. (n=9-12).



**Figura 2** – Acúmulo dos principais estoques de gorduras. \* $p < 0.05$ . Teste t de Student. (n=9-12 por grupo).



**Figura 3** – Glicemia durante o TTIip (A) e o TTGiv (B), a inserção em A representa a constante de decaimento da glicose (Kitt), a inserção em B demonstra a área sobre a curva (AUC). Teste t de Student. (n=8-10 por grupo)

### Conclusões

Observamos um leve aumento do peso corporal na vida adulta, porém, sem alteração do consumo alimentar. Nossos resultados também demonstram um leve aumento na gordura retroperitoneal. A exposição ao ORG na vida perinatal não conduziu a alterações na homeostase glicêmica, bem como, na captação periférica de insulina. A vida perinatal é uma forte janela de programação, contudo, na dose LOAEL, as proles de fêmeas apresentam resistência a essa programação metabólica.

### Agradecimentos

PIBIC/CNPq, UEM, LBCS e colaboradores.

### Referências

BARELLA, Luiz Felipe; DE OLIVEIRA, Júlio Cezar; DE FREITAS MATHIAS, Paulo Cezar. Pancreatic islets and their roles in metabolic programming. **Nutrition**, v. 30, n. 4, p. 373-379, 2014.

BARKER, D. J. P. The developmental origins of adult disease. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 23, n. sup6, p. 588S-595S, 2004.

GUZMAN, C. et al. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. **The Journal of physiology**, v. 572, n. 1, p. 97-108, 2006.

RIBEIRO, Tatiane Aparecida et al. Acephate exposure during a perinatal life program to type 2 diabetes. **Toxicology**, v. 372, p. 12-21, 2016.