

## TRATAMENTO COM METFORMINA NA ADOLESCENCIA DE RATAS WISTAR PODE PREVENIR DISFUNÇÕES METABÓLICAS DA OBESIDADE

Mariana Narciso Constâncio (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Anna Carolina Hupples de Souza<sup>1</sup>, Ana Letícia Mans Assakawa<sup>1</sup>, Marcos Vinícius Martins<sup>1</sup>, Rafael Pereira Lopes<sup>1</sup>, Douglas Lopes Almeida<sup>1</sup> (Coorientador) Paulo Cezar de Freitas Mathias<sup>1</sup> (Orientador). E-mail: narcisomariananc@outlook.com

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular Laboratório Experimental em DOHaD (Lex DOHaD), Maringá, PR.

### Fisiologia, Fisiologia de Órgãos e Sistemas

**Palavras-chave:** DOHaD, Superalimentação pós-natal, Fêmeas

### RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da superalimentação neonatal em parâmetros biométricos durante a adolescência e na vida adulta, e quais os efeitos da utilização da metformina durante adolescência a longo prazo. A hipótese é de que o tratamento durante a puberdade de ratas com sobrepeso induzido na vida neonatal pode prevenir as disfunções metabólicas na vida adulta. Os animais foram separados em grupos NL (9 filhotes por mãe) e SL (3 filhotes por mãe), utilizados como modelos de alimentação neonatal normal e superalimentação precoce, respectivamente. Aos 30 dias, foram subdivididos em grupos NL- MET e NL-CONTROLE SL-MET, SL-CONTROLE, o tratamento com metformina foi administrado via água de beber até os 60 dias de vida. Durante todo o período experimental foi registrado o peso corporal de todos os ratos semanalmente. Aos 30 e 120 dias de idade foram realizados os testes de ITT e oGTT. Na vida adulta, os animais tratados com metformina apresentaram melhorias na tolerância a glicose, na sensibilidade à insulina, no ganho de peso corporal e no acúmulo de gorduras, tanto branca quanto marrom. Os resultados mostram que o tratamento com metformina durante a adolescência podem inibir ou mitigar as disfunções metabólicas causadas pela superalimentação durante a lactação em ratas adultas.

### INTRODUÇÃO

O conceito DOHaD (Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença), evidencia o efeito programador a partir de insultos como a disponibilidade alimentar calórica, insultos farmacológicos ou ambientais em fases sensíveis do desenvolvimento como a gestação, lactação e a adolescência. Podendo, portanto, causar alterações no metabolismo (FALL, KUMARAN, 2019). O ambiente de desenvolvimento neonatal e infantil é determinante para a saúde metabólica mais tarde na vida. Nesse sentido,

propõem-se o estudo experimental do modelo de obesidade por meio do método de redução de ninhada, a fim de investigar os efeitos da programação em parâmetros biométricos durante a adolescência e na vida adulta. Machos e fêmeas respondem de maneira diferente a essa alteração nutricional. O objetivo do projeto foi avaliar essas alterações em fêmeas e qual efeito o uso da metformina na adolescência pode causar. Em relação aos efeitos da metformina no contexto de superalimentação neonatal, previamente nosso grupo de pesquisa mostrou que o tratamento durante a lactação melhora, previne, as disfunções metabólicas induzidas pela redução da ninhada em ratos machos (PREVIATE, C. et al, 2020). Dessa forma, considerando a puberdade como uma importante janela de programação metabólica e os efeitos benéficos da metformina, hipotetizamos que o tratamento com metformina durante a puberdade de ratas pode prevenir ou mitigar as disfunções metabólicas causadas pela superalimentação neonatal.

## MATERIAIS E MÉTODOS

*Animais e condições experimentais:* Após a aprovação do Comitê de Ética (CEUA), protocolo nº 4831020822, matrizes adultas de ratos Wistar foram obtidas do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá – UEM, e trazidas para o Biotério Setorial, onde foi feito o cruzamento (2 fêmeas para cada 1 macho). Após a constatação observacional da prenhez, a fêmea foi colocada em uma caixa isolada. Na ocasião do nascimento as ninhadas foram mantidas com 9 filhotes como padronização do tamanho da ninhada. Ao terceiro dia de vida o grupo SL teve sua ninhada reduzida para 3 animais, e o grupo NL permaneceu com 9 animais. O desmame aconteceu aos 21 dias de vida dos filhotes, resultantes de 4 ninhadas por grupo, por sua vez foram mantidos apenas as ratas fêmeas para a realização dos protocolos experimentais. Aos 30 dias, foram subdivididos em grupos SL-MET, SL-CONTROLE, NL- MET e NL-CONTROLE, onde o tratamento com metformina foi administrado via água de beber na dose de 300 mg/kg de peso corporal/dia até os 60 dias de vida.

*Parâmetros biométricos:* Após o desmame, durante todo o período experimental foi registrado evolução ponderal de todas as ratas. Após todos os procedimentos experimentais aos 120 dias de vida, os animais foram eutanasiados e laparatomizados para a dissecação dos estoques de gordura uterina, ovariana, retroperitoneal e visceral, os quais foram pesados para uma estimativa do acúmulo total de gordura corporal.

*Teste de Tolerância à Insulina intraperitoneal (ITT):* Aos 30 e 120 dias de vida. Um lote de animais (n = 4 ninhadas por grupo) foi submetido à um jejum de 6 horas, posteriormente receberam uma injeção intraperitoneal de insulina (1U/kg de PC). A coleta de sangue (300µL) foi feita através da veia caudal e a glicemia mensurada por um glicosímetro (FreeStyle Optimun H - Abbott), nos tempos 0 (basal); 15, 30, 45 e 60 minutos depois da injeção de insulina. Foi calculado a constante da taxa de decaimento da glicose sanguínea (kITT). *Teste de tolerância à glicose via oral (oGTT):* Após dois dias de recuperação do ITT, as ratas dos 4 grupos foram deixadas em jejum de 12 horas. Logo após, receberam uma solução de glicose via

oral através de gavagem (1g/Kg de massa corporal). Através da veia caudal amostras de sangue foram obtidas. As coletas de sangue foram feitas nos tempos de 15, 30, 45, 60 e 120 minutos. A glicemia foi avaliada por glicosímetro (FreeStyle Optimun H - Abbott).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que aos 30 dias, o grupo SL apresentou excesso de peso em relação ao grupo NL. Aos 120 dias o grupo SL-C apresentou maior peso corporal em relação aos outros grupos, onde apresenta uma diferença significativa quando comparado ao grupo SL tratado com metformina, que apresentou uma regulação uma diminuição de peso corporal. Ratas do grupo SL-Controle apresentaram aumento de peso nos coxins de gordura: periovariana, periuterina, retroperitoneal, mesentérica e marrom em comparação aos outros grupos (tabela 1). No PN30, os grupos SL- C e SL-MET apresentaram maior resistência à insulina e intolerância à glicose do que os grupos NL-C e NL-MET (figura1 - a e b). Já aos 120 dias, os grupos SL tratados com metformina apresentou uma melhora quanto a tolerância a glicose e na sensibilidade à insulina, os grupos NL também permaneceram mais sensíveis a insulina e mais tolerantes a glicose quando comparados ao grupo SL- Controle (figura 1 - c e d).

	Dados por grupo (Média±DP)				Interação	Metformina	Ninhadas
	NL-C	NL-MET	SL-C	SL-MET			
Peso corporal PN30 (g)	79,75±11,85	-	98,52±9,952	-	-	-	<0,0001
Peso corporal PN45 (g)	154,1±10,99	135,1±12,33	175,5±8,83	166,5±9,94	0,0078	<0,0001	<0,0001
Peso corporal PN60 (g)	200,4±13,34	195,5±13,76	226,5±5,08	217,3±15,38	0,0078	<0,0001	<0,0001
Peso corporal PN120 (g)	262,3±14,72	254,5±15,27	312,5±24,88	270,6±13,91	0,0078	<0,0001	<0,0001
Peso Fígado (g)	7,6±0,69	7,02±0,69	8,03±0,58	6,9±1,04	ns	0,0046	ns
Peso Peri ovariana (g)	2,5±0,69	1,9±0,54	3,6±0,89	2,28±0,56	ns	0,0003	0,0087
Peso Peri uterina (g)	4,7±0,60	3,16±1,15	5,4±0,76	3,7±0,78	ns	0,0493	<0,0001
Peso Retro peritoneal (g)	3,6±0,56	3,3±0,77	5,11±1,07	3,7±0,54	ns	0,0049	0,0010
Peso mesentérica (g)	2,8±0,52	2,16±0,63	3,5±0,75	2,31±0,56	ns	0,0001	ns
Peso gordura marrom (g)	0,194±0,03	0,19±0,027	0,24±0,046	0,2±0,041	ns	ns	ns

Tabela 1. Peso corporal no PN30, PN45, PN60, PN120; peso do fígado e estoques de gorduras aos 120 dias.

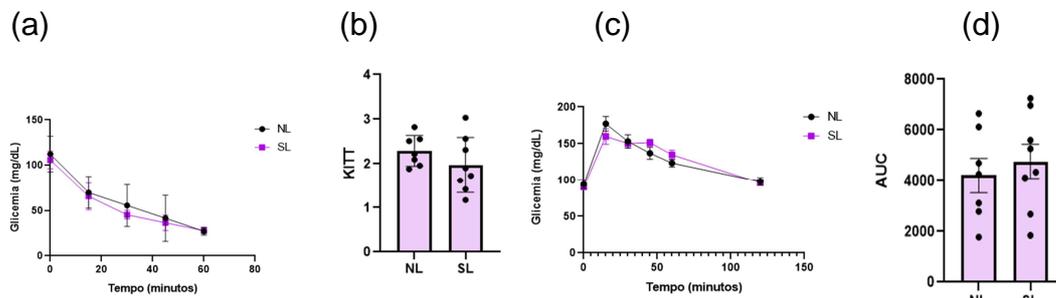


Figura 1: Curvas dos testes de tolerância a insulina (a) e tolerância a glicose(c). Os graficos (b) e (d) representam o kitt e a area sob a curva (AUC) aos 30 dias, respectivamente.

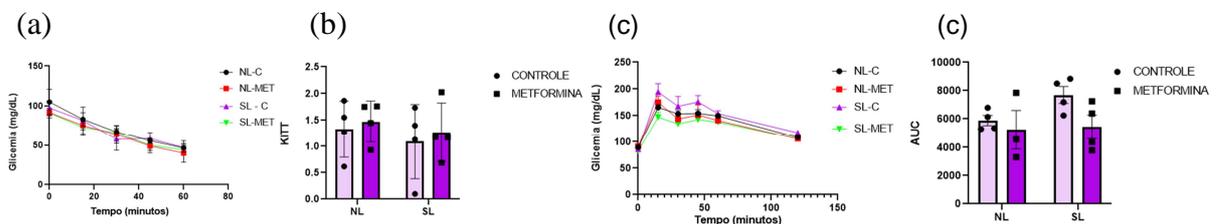


Figura 2. Curvas dos testes de tolerância a insulina (d) e tolerância a glicose(f). Os graficos (e) e (g) representam o kitt e a area sob a curva (AUC) aos 120 dias.

## CONCLUSÕES

Assim sendo, o estudo mostra que o tratamento com metformina durante a adolescência pode inibir ou mitigar as disfunções metabólicas causadas pela hiperalimentação durante a lactação em ratas adultas.

## AGRADECIMENTOS

As instituições de fomento: CNPq e a Fundação Araucária, que permitiram a realização desse projeto com a bolsa de iniciação científica

## REFERÊNCIAS

FALL, Caroline HD; KUMARAN, Kalyanaraman. Metabolic programming in early life in humans. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, v. 374, n. 1770, p. 20180123, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0123> Acesso em 25 de Agosto de 2023

PREVIATE, Carina. Tratamento neonatal com metformina previne a síndrome metabólica na vida adulta. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1113/EP088846> Acesso em 25 de Agosto de 2023.