

TRATAMENTO COM METFORMINA DURANTE A FASE PERIPUBERAL ATENUA EFEITOS DA SUPERALIMENTAÇÃO PRECOCE EM RATAS FÊMEAS

Ana Carolina Carvalho de Sá (PIBIC/CNPQ Fundação Araucária), Scarlett Raposo, Giovanna Paola Volpato, Leticia Ferreira Barbosa, Ana Leticia Assakawa, Douglas de Almeida e Paulo Cesar de Freitas Mathias (Orientador). E-mail: pmathias@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/Biologia Geral

Palavras-chave: adolescência, metformina, obesidade.

RESUMO

Este estudo investigou os efeitos da supernutrição precoce e da intervenção com metformina no ganho de peso e desenvolvimento sexual em ratas *Wistar*. Ninhadas *Wistar* foram distribuídas durante a lactação em 9 ou 3 filhotes fêmeas por progenitora (NL e SL respectivamente), e receberam, ou não, a administração de metformina entre o 30º e o 60º dia de vida, formando quatro grupos NL-C, NL-T, SL-C e SL-T. Avaliaram-se peso corporal, ingestão alimentar, consumo hídrico, maturação sexual e homeostase glicêmica na vida adulta, e peso de gorduras e do ovário, aos 120 dias de idade. O grupo SL apresentou maior ganho de peso e acúmulo de gorduras periovariana, periuterina e mesentérica, além de adiantar a abertura vaginal. A metformina normalizou o tempo de abertura vaginal, mas não afetou significativamente o ganho de peso ou a homeostase glicêmica. Concluímos que a supernutrição precoce pode programar para obesidade e desregulação sexual, e que a metformina atenua parcialmente esses efeitos.

INTRODUÇÃO

A obesidade infantil, especialmente em meninas, é uma crescente preocupação de saúde pública devido às suas complicações a longo prazo, como acúmulo de gordura e disfunções sexuais e glicêmicas. O conceito DOHaD (Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença) sugere que estresses ambientais em fases críticas do desenvolvimento, como o período pós-natal e a puberdade, podem

predispor a doenças crônicas (BARKER, DJP). A redução de ninhada em ratos, usada como modelo de estresse nutricional precoce, pode levar a esses efeitos, e a metformina, amplamente prescrita para diabetes, é estudada por seus possíveis benefícios metabólicos (PREVIATE, C). Este estudo investiga se a sobrealimentação precoce programa ratas Wistar fêmeas para obesidade e se a metformina pode mitigar esses efeitos quando administrada apenas na puberdade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo utilizou 23 ninhadas de ratos fêmeas *Wistar* (CEUA 4831020822). A partir do nascimento natural, ninhadas Wistar foram distribuídas durante a lactação em 9 ou 3 filhotes fêmeas por progenitora (NL e SL respectivamente). Os filhotes foram desmamados aos 21 dias de idade e receberam, ou não, a administração de metformina (300 mg/kg) diluída na água, ajustada ao consumo hídrico e peso médio a cada dois dias, entre o 30º e o 60º dia de vida, formando quatro grupos NL-C (n=6), NL-T (n=5), SL-C (n=6) e SL-T (n=6). Análises comparativas (test T de Student quando para 2 grupos e 2-way-ANOVA quando para 4 grupos) foram realizadas no software Prism 9.

Procedimentos e Avaliações

1. Abertura Vaginal: monitorada diariamente a partir do 30º dia de vida e determinada quando foi observada a completa separação na estrutura reprodutiva.
2. A ingestão alimentar e consumo hídrico foram monitorados semanalmente de 30 aos 120 DPN (dia pós natal).
3. Testes Metabólicos *in vivo*:
 - Teste de Tolerância à Insulina (ITT): Foi realizado no 118º DPN para avaliar a sensibilidade à insulina.
 - Teste de Tolerância à Glicose Oral (OGTT): Foi realizado no 118º DPN para avaliar a resposta glicêmica após a administração de glicose.
4. Eutanásia seguida de coleta de tecidos (gorduras mesentérica, retroperitoneal, periuterina e periovariana, ovário e plasma foi realizada no 120º dia de vida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Desenvolvimento Sexual:

- Data da Abertura Vaginal (Fig.1B): O dia verificado foi significativamente adiantado no grupo SL-C vs NL-C; e normalizado entre os grupos SL-C e SL-T. As análises feitas por 2-way ANOVA constataram efeito de tamanho de ninhada e interação entre os fatores. Desta forma, a metformina durante a fase peripuberal mostrou-se eficaz em normalizar o tempo de abertura vaginal, indicando um efeito protetor na regulação do desenvolvimento sexual (IBÁÑEZ, L).

2. Peso Corporal: Aos 21 dias (Fig.1A) e aos 120 DPN (Tab.1), observou-se que os animais do grupo SL apresentaram um peso significativamente maior que os do grupo NL.

3. Ingesta alimentar e Consumo hídrico (Tab.1): não houve alterações.

4. Peso dos Tecidos (Tab.1): Não houve alterações comparativas significativas estatisticamente na avaliação da gordura retroperitoneal, e ovários. Por sua vez, as gorduras mesentérica, periuterina e periovariana: apresentaram efeitos de tamanho da ninhada, com aumento significativo em grupos SL.

5. Homeostase Glicêmica:

- Insulina (Tab.1): foi observado aumento significativo da concentração de insulina no grupo SL-C, pela análise de múltiplas comparações, em comparação com o grupo NL-C, além do efeito de ninhada indicado pelo 2-way ANOVA, que demonstrou aumento significativo nos grupos SL.

- kITT (Teste de Tolerância à Insulina): não foram observadas diferenças significativas (Tab.1).

- OGTT (Teste de Tolerância à Glicose Oral) foi observado efeito de ninhada, ou seja, a AUC das curvas glicêmicas foi significativamente maior nos grupos SL, a partir da análise 2-way ANOVA (Tab.1).

Figura 1

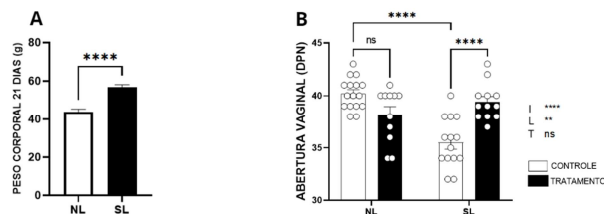


Fig.1: A: Peso corporal aos 21 dias – NL (n=11) e SL (n=12). B: Abertura vaginal - NL-C (n=16), SL-C (n=14), NL-T (n=11) e SL-T (n=12); *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, ****p<0,0001.

Tabela 1

Parâmetros Biométricos	Dados por grupo (média ± desvio padrão)				Valor de p		
	NL-Ca	NL-Tb	SL-Cc	SL-Td	Ninhada	Tratamento	Interação
Peso Corporal 120 DPN (g)	266,5 ± 3,1c	265,02 ± 3,8	284,1 ± 4,2a	276,6 ± 3,17	<0,001	ns	ns
AUC Ingesta Alimentar (30-120 DPN)	461,65 ± 118,9	452,52 ± 84,34	367,6 ± 40,38	398,5 ± 69,74	ns	ns	ns
AUC Consumo Hídrico (30-120 DPN)	968,9 ± 235,9	893,16 ± 196,05	878,6 ± 153,5	696,51 ± 183,6	ns	ns	ns
Gordura Mesentérica (g/100pc)	0,87 ± 0,03	0,87 ± 0,06	0,98 ± 0,043	0,95 ± 0,037	<0,05	ns	ns
Gordura Retroperitoneal (g/100pc)	1,11 ± 0,05	1,16 ± 0,08	1,21 ± 0,06	1,28 ± 0,04	ns	ns	ns
Gordura Periovariana (g/100pc)	1,15 ± 0,04	1,11 ± 0,06	1,34 ± 0,04	1,19 ± 0,06	<0,05	ns	ns
Gordura Periovariana (g/100pc)	1,00 ± 0,04c	0,96 ± 0,07	1,22 ± 0,06a	1,14 ± 0,03	<0,001	ns	ns
Ovários (g/100pc)	0,032 ± 0,001	0,033 ± 0,002	0,030 ± 0,001	0,031 ± 0,001	ns	ns	ns
Insulinemia em jejum (ng/dL)	2,48 ± 0,29c	3,13 ± 0,44	4,99 ± 0,82a	5,29 ± 1,09	<0,0005	ns	ns
KITT (%/min.)	1,32 ± 0,3	1,5 ± 0,3	0,9 ± 0,1	1,4 ± 0,5	ns	ns	ns
AUC OGTT	6399,8 ± 756,2	7039 ± 889,3	8528,3 ± 1083,6	9771,5 ± 1245,5	<0,05	ns	ns
Abertura Vaginal (DPN)	40,1 ± 0,3c	38,1 ± 0,7	35,5 ± 0,6ad	39,4 ± 0,4c	<0,01	ns	<0,0001

Tab.1- Dados expostos: Média ± desvio padrão; valor de *p* indica significância. Número de animais utilizado 10 a 18 por grupo. Interação entre o tamanho da ninhada e o fator tratamento (I), ninhada (L), tratamento (T), ninhada normal (NL), ninhada reduzida (SL) e sem diferença significativa (ns).

CONCLUSÕES

Este estudo conclui que a sobrealimentação precoce pode programar obesidade e desregulação do amadurecimento sexual, e que a metformina atenua apenas parcialmente esses efeitos, normalizando o desenvolvimento sexual.

AGRADECIMENTOS

Agradeço às agências de fomento CAPES, CNPq, JBS, Fund. Araucária e INSPAM.

REFERÊNCIAS

BARKER, DJP. Fetal origins of coronary heart disease. **Bmj**, v. 311, n. 6998, p. 171-174, 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7613432/>. Acesso em: 27 agosto 2024.

IBÁÑEZ, L. et al. Tratamento com metformina para prevenir a puberdade precoce em meninas com pubarca precoce. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 91, n. 8, p. 2888-2891, ago. 2006. DOI: 10.1210/jc.2006-0336. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jc.2006-0336>. Acesso em: 16 set. 2024. PMID: 16684823

PREVIATE, C. et al. Early metformin treatment improves pancreatic function and prevents metabolic dysfunction in early overfeeding male rats at adulthood. **Experimental Physiology**, v. 105, n. 12, p. 2051-2060, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33074581/>. Acesso em: 27 agosto 2024.