

ALTERAÇÕES DO METABOLISMO GLICÍDICO NA MENOPAUSA QUIMICAMENTE INDUZIDA COM DIEPÓXIDO 4-VINILCICLOHEXANO (VCD): UM MODELO EXPERIMENTAL COM CAMUNDONGOS

BIANCA MACHADO DE ÁVILA¹; BIANKA MACHADO ZANINI²; ÉRICA HEMP GONÇALVES³; JÉSSICA DAMÉ HENSE⁴; GABRIEL BARRETO VEIGA⁵; AUGUSTO SCHNEIDER⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – bianca_avila@ymail.com

²Universidade Federal de Pelotas – bianka_zanini@hotmail.com;

³Universidade Federal de Pelotas – ericahtoncalves@hotmail.com;

⁴Universidade Federal de Pelotas – jeeh.hense@hotmail.com;

⁵Universidade Federal de Pelotas – gabrielbveiga@icloud.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – augustoschneider@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento reprodutivo se caracteriza por uma degradação contínua e progressiva da reserva ovariana e da fertilidade (NEVES & MARQUES, 2008). Nas mulheres, como em outras espécies de mamíferos, a reserva ovariana apresenta uma quantidade finita de oócitos definida ao nascimento, que vai sendo gradativamente reduzida com a idade até seu total esgotamento que resulta no que conhecemos como menopausa (FINCH, 2014). Em uma perspectiva comparativa entre roedores e humanos, é possível observar que ambas as espécies apresentam uma perda da reserva ovariana com início ainda no período pré-natal, e uma depleção exponencial de folículos primordiais em associação com perda de fecundidade na meia-idade, irregularidade nos ciclos ovulatórios e aumento da aneuploidia fetal conforme a depleção de oócitos se torna iminente (FINCH, 2014).

Durante a menopausa ocorrem alterações hormonais importantes, tanto em animais castrados como em mulheres na menopausa, principalmente relacionadas ao redução dos níveis de estrogênio decorrente da perda da função ovariana que, aparece fortemente relacionado a diversas alterações metabólicas na menopausa como aumento de adiposidade, alterações no metabolismo lipídico, hipertensão, resistência a insulina, além da combinação desses diferentes fatores que resultam em síndrome metabólica (BITTO et al., 2009).

Dentre os modelos experimentais de menopausa em roedores o método de indução mais encontrado ainda é a ovariectomia, um modelo de indução cirúrgica que induz a menopausa de forma mais abrupta (CHEN, et al., 2014). Como alternativa, um novo modelo experimental quimicamente induzido com diepóxido de 4-vinilciclohexano (VCD) tem sido utilizado para indução da menopausa em roedores, com o objetivo de mimetizar o processo gradativo do envelhecimento reprodutivo feminino e contribuir com uma melhor compreensão dos efeitos da menopausa (CHEN et al., 2014; DAS et al., 2021). O VCD possui uma atividade ovotóxica que acelera a perda de folículos primários e primordiais, resultando em um estado endócrino que reproduz de forma semelhante a progressão natural do envelhecimento ovariano e das fases de transição entre o período pré e pós reprodutivo como acontece com humanos, condicionada pela falha gradual da função ovariana e pela depleção folicular (BROOKS et al., 2016).

Com base nisso, este estudo propõe avaliar as alterações do metabolismo glicídico durante a menopausa quimicamente induzida por VCD em um modelo experimental com camundogos.

2. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo experimental, que utilizou 20 camundongos fêmeas da espécie *Mus musculus*, linhagem C57BL/6 de 60 dias de idade. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais com $n=10$ animais por grupo: grupo controle e grupo menopausa. No grupo menopausa foi realizado o protocolo de indução química da menopausa com VCD no qual cada fêmea recebeu injeções intraperitoneais contendo VCD na dose de 160mg/kg diluídas em óleo de gergelim por 20 dias consecutivos. Os controles receberam apenas injeções intraperitoneais de óleo de gergelim pelo mesmo período. O estado de menopausa foi confirmado por citologia vaginal 60 dias após do término do tratamento com VCD. Assim que confirmada a menopausa, os animais foram pesados quinzenalmente durante 13 semanas para acompanhamento do ganho de peso e, ao término deste período foram realizados testes de tolerância a glicose e insulina, com o objetivo de avaliar a resistência insulínica. Aos 255 dias de idade, os animais foram eutanasiados e, a gordura foi extraída e pesada.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Graphpad Prism 8. O teste estatístico ANOVA de medidas repetidas foi utilizado para a análise do consumo, peso corporal, TTI e TTG. O teste T foi utilizado para comparar as médias de gordura corporal, ganho de peso, área sobre a curva de glicose e Kitt entre os grupos. Foram considerados estatisticamente significativos valores de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No grupo menopausa observou-se uma média de peso superior quando comparado ao grupo controle ($p < 0,001$), principalmente no período pós indução da menopausa (Figura 1). Entretanto, ao analisarmos o ganho de peso (peso final - peso inicial) dos animais não foi encontrada diferença significativa entre os grupos ($p=0,1582$), mas se observou uma tendência de maior ganho de peso no grupo menopausa. Isto corrobora com o resultado de aumento de peso entre os grupos em menopausa semelhante a outros estudos (ROMERO-ALESHIRE et al., 2009; ROGERS et al., 2009). No estudo realizado por Rogers et al. (2009), os resultados apontaram um ganho de peso significativamente maior em um modelo de menopausa cirúrgica em camundongos.

Neste estudo a quantidade de gordura corporal não demonstrou diferença significativas entre as fêmeas em menopausa e as controles ($p= 0,2393$). O estudo realizado por Romero-Aleshire e colaboradores (2009) identificou que após 16 semanas ofertando uma dieta rica em gordura a camundongos tratados com VCD e cíclicos, ambos os grupos apresentaram um aumento significativo em relação a quantidade de gordura corporal quando comparados a camundongos em uma dieta padrão. Entretanto, quando comparados apenas os grupos em dieta hiperlipídica VCD e seus controles cíclicos, foi observado que as fêmeas em menopausa consumindo uma dieta rica em gorduras eram significativamente mais pesadas que as cíclicas, porém sem diferença na quantidade de gordura (ROMERO-ALESHIRE et al., 2009) similar ao observado em nosso estudo com dieta normal.

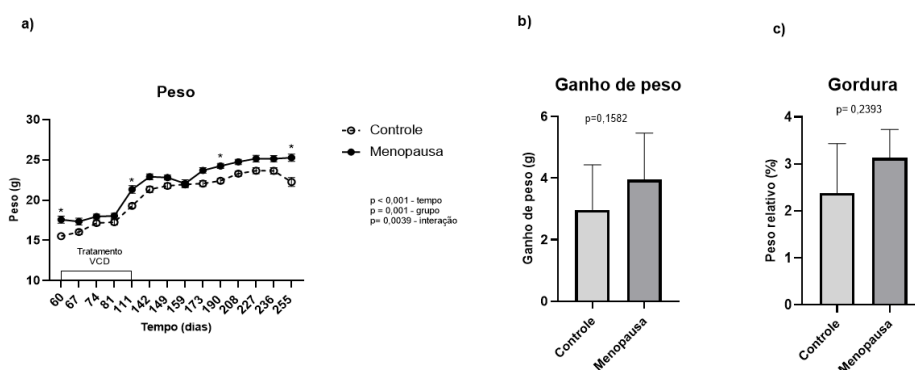


Figura 1: a) Peso corporal das fêmeas não tratadas (controle) e tratadas com VCD (menopausa). b) Média de ganho de peso entre as fêmeas não tratadas (controle) e fêmeas tratadas com VCD (menopausa). c) Média da quantidade de gordura corporal relativa entre as fêmeas não tratadas (controle) e fêmeas tratadas com VCD (menopausa).

Os testes de TTG ($p = 0,1355$) e TTI ($p = 0,7963$), realizados para avaliar a resistência insulínica, não demonstraram diferença significativa entre as fêmeas controles e em menopausa, mas foi possível observar uma tendência de menor sensibilidade a insulina nas fêmeas em menopausa (Figura 2). Um estudo que avaliou camundongos tratados com VCD em uma dieta padrão, acompanhados por 26 semanas, apontou que, os camundongos em menopausa tiveram uma tolerância à glicose diminuída, enquanto camundongos cíclicos tiveram respostas normais (ROMERO-ALESHIRE et al., 2009). Estudos sugerem que esta menor sensibilidade a insulina pode estar associada a redução dos níveis de estrogênio na menopausa, tanto em roedores como em mulheres (ROMERO-ALESHIRE et al., 2009; HOWARD et al., 2004). Acredita-se que, se o experimento tivesse sido mantido por mais tempo, os resultados referentes a resistência insulínica poderiam ter sido diferentes, pois em 13 semanas de acompanhamento já se observou uma tendência de aumento no grupo menopausa.

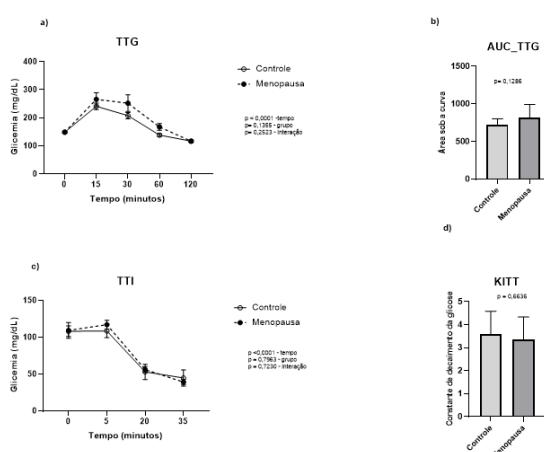


Figura 2: a) Teste de tolerância a glicose (TTG) após 4 horas de jejum - curva glicêmica de fêmeas não tratadas (controle) e tratadas (menopausa); b) Área sob a curva (AUC) do TTG; c) Teste de tolerância à insulina (TTI) após 2 horas de jejum - curva glicêmica de fêmeas não tratadas (controle) e tratadas (menopausa); d) Constante de decaimento da glicose (KITT) do TTI.

4. CONCLUSÕES

O presente estudo sugere que, mesmo com as particularidades da espécie, este modelo experimental de menopausa induzida com VCD pode ser bastante útil, pois mimetiza um processo de degradação progressiva da reserva ovariana que se assemelha ao processo natural da menopausa em humanos, podendo contribuir de forma importante com estudos futuros que visem investigar sobre patologias, tratamentos ou alterações relacionadas ao período de pós-reprodutivo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NEVES, MM.; MARQUES, APJr. Senescência reprodutiva feminina em mamíferos. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.133-140, 2008.

FINCH, CA. The menopause and aging, a comparative perspective. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. Volume 142, 2014.

BITTO, A.; ALTAVILLA, D.; BONAIUTO, A.; POLITO, F.; MINUTOLI, L.; DI STEFANO, V.; GIULIANI, D.; GUARINI, S.; ARCORACI, V.; & SQUADRITO, F. Effects of a glycone genistein in a rat experimental model of postmenopausal metabolic syndrome. *Journal of Endocrinology*, 200 (3), 367-376; 2009.

CHEN, H.; PEREZ, JN.; CONSTANTOPOULOS, E.; MCKEE, L.; REGAN, J.; HOYER, P. B.; BROOKS, HL.; KONHILAS, J. A Method to Study the Impact of Chemically-induced Ovarian Failure on Exercise Capacity and Cardiac Adaptation in Mice. *J. Vis. Exp.* (86), e51083, 2014.

ROMERO-ALESHIRE, MJ.; DIAMOND-STANIC, MK.; HASTY, AH.; HOYER, PB.; BROOKS, HL. Loss of ovarian function in the VCD mouse-model of menopause leads to insulin resistance and a rapid progression into the metabolic syndrome. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 297(3):R587-92; 2009.

BROOKS, HL.; FOLLOW, DP.; HOYER, PB. The VCD Mouse Model of Menopause and Perimenopause for the Study of Sex Differences in Cardiovascular Disease and the Metabolic Syndrome. *Physiology (Bethesda)*; 31(4):250-257; 2016.

DAS, M.; ELLIES, LG.; KUMAR, D. et al. Time-restricted feeding normalizes hyperinsulinemia to inhibit breast cancer in obese postmenopausal mouse models. *Nat Commun*, 12, 565; 2021.