

EFEITOS DA INDUÇÃO QUÍMICA DA MENOPAUSA EM CAMUNDONGOS NA SENSIBILIDADE DA INSULINA E GANHO DE PESO

EDIANA V. NEITZKE¹; **BIANCA ÁVILA²**; **BIANKA ZANINI²**; **DRIELE GARCIA²**;
JESSICA HENSE²; **AUGUSTO SCHNEIDER³**

¹*Universidade Federal de Pelotas – ediananeitzke.doc@gmail.com*

² *Universidade Federal de Pelotas*

³ *Universidade Federal de Pelotas – augusto.schneider@ufpel.edu.br*

1. INTRODUÇÃO

A menopausa é caracterizada pela ausência da menstruação por um período de doze meses consecutivos (MINKIN, 2019; TINELLI, 2002). É evidenciado vários desfechos clínicos, como ganho de peso, aumento da adiposidade corporal, resistência à insulina associados à esse período (BITTO et. al, 2009). O que ainda não está claro na literatura científica é que se as morbidades como resistência a insulina, ganho de peso é devido a alteração hormonal pela falha ovariana ou por causa do envelhecimento. Desta forma, estudos com modelos experimentais em camundongos e ratos, buscam uma melhor compreensão dos efeitos da menopausa.

Um dos métodos para induzir a perda gradativa de folículos ovarianos primordiais e primários, acelerando o processo natural de atresia e induzindo a menopausa de forma semelhante com o que acontece na espécie humana e em outras espécies de mamíferos é o composto químico diepóxido de 4-vinilciclohexeno (VCD) (BROOKS et al., 2016). O VCD é uma droga ovotóxica que produz falha ovariana precoce em roedores, e tem sido utilizada como ferramenta para o estudo das alterações neuroendócrinas e comportamentais decorrentes da menopausa, permitindo uma correlação mais fiel ao que acontece com mulheres quando comparado a modelos experimentais que utilizam a ooforectomia. Desta forma, o método VCD é melhor quando comparado a ovariectomia, pois preserva o ovário de forma semelhante com o que acontece em mulheres (Romero-Aleshire et al., 2009).

Portanto, o objetivo do estudo é avaliar os efeitos da indução química da menopausa no peso, na gordura e sensibilidade à insulina em camundongos.

2. METODOLOGIA

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da UFPel. Foram utilizados camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6 de aproximadamente 60 dias de idade. Todos os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura, luz e umidade ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclos de 12 horas claro/12 horas escuro e 40%-60%) respectivamente. Aos 60 dias de idade os camundongos foram divididos em grupos controle e intervenção. As fêmeas do grupo intervenção foram submetidas ao protocolo de indução química da menopausa com o composto VCD. Cada fêmea recebeu injeções intraperitoneais contendo VCD na dose de 160mg/kg por 20 dias consecutivos. A dose escolhida, a via e o período de administração foram baseados em estudos prévios (BROOKS et al., 2016). Após a confirmação da menopausa por citologia vaginal, os animais

foram acompanhados por 120 dias e então todos eutanasiados para coleta de tecidos.

Uma semana antes da eutanásia, foi realizado Teste de Tolerância à Insulina (TTI). Foi administrada a dose de 0.5 UI/kg de peso corporal de insulina por via intraperitoneal após duas horas de jejum. O sangue foi coletado através de uma pequena incisão na ponta da cauda nos seguintes tempos: 0, 15, 30 e 60 minutos após a injeção de insulina e os níveis de glicose foram mensurados com um glicosímetro (AccuChekActiv, Roche Diagnostics®, USA).

Analise estatistica foi feita utilizando o software Graphpad Prism 6.0. O teste estatístico ANOVA de medidas repetidas foi utilizado para a análise do peso corporal e TTI. Teste de t foi usado para peso da gordura e ganho de peso. Foi considerado estatisticamente significativos valores de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio do exame de citologia vaginal, observou-se que as fêmeas estavam em fase de anestro, confirmando que o composto VCD induziu a menopausa nestes animais.

O peso dos animais pertencentes ao grupo controle e VCD, foi acompanhado semanalmente. Antes da indução química com VCD, ambos os grupos, VCD e controle, apresentavam peso corporal similar (Figura 1A). Após o tratamento com VCD, o ganho de peso foi maior ($p=0,02$) no grupo VCD do que no controle (Figura 1B). Sendo esse ganho mais acentuado a partir na 8^o semana, quando já estavam na estropausa (Figura 1A). No entanto, o peso de gordura visceral não foi diferente entre grupos (Figura 2). Em relação ao TTI, o declínio da glicose se manteve similar entre os grupos (Figura 3).

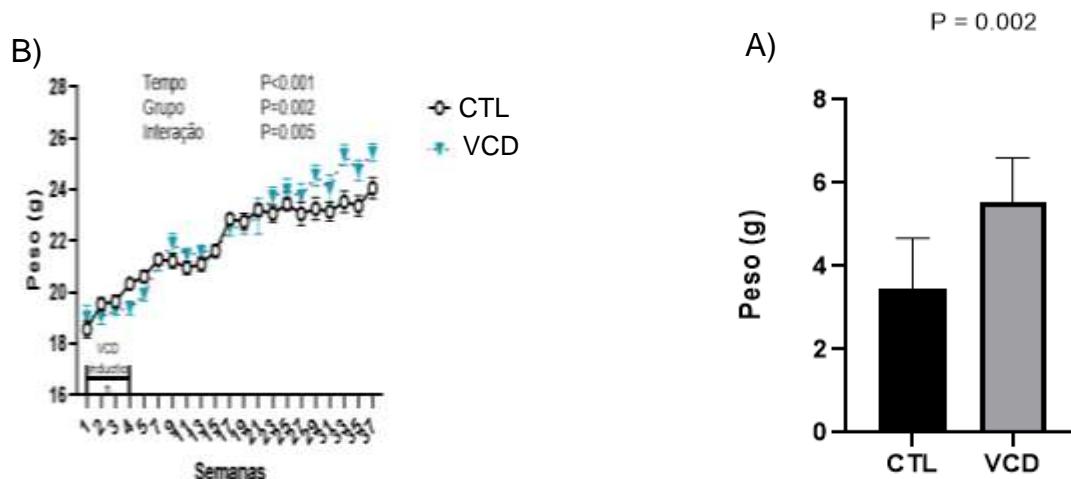


Figura 1: A) Peso corporal semanal dos grupos controle e que recebeu a indução química para menopausa (Grupo VCD) e B) Ganho de peso da indução da menopausa ao final do estudo. O grupo intervenção recebeu aos 60 dias de idade injeções intraperitoneais contendo VCD na dose de 160mg/kg por 20 dias consecutivos.

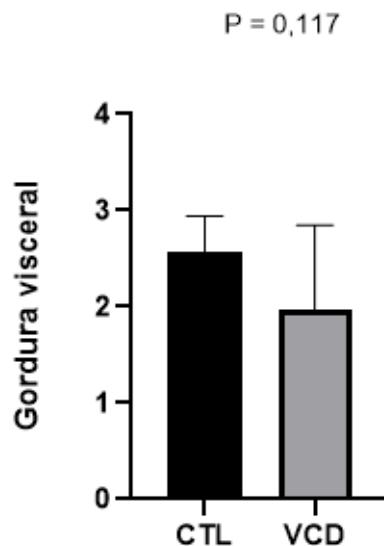


Figura 2: Gordura visceral dos grupos controle e que recebeu a indução química para menopausa (Grupo VCD). O grupo intervenção recebeu aos 60 dias de idade injeções intraperitoneais contendo VCD na dose de 160mg/kg por 20 dias consecutivos.

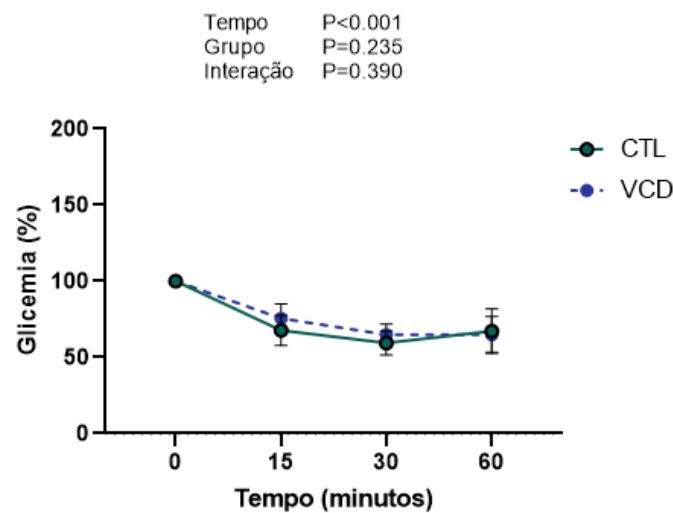


Figura 3: Níveis de glicose sanguínea em percentual do valor basal 0, 15, 30 e 60 minutos após a injeção de insulina. Foi administrada, tanto no grupo controle, quanto no grupo VCD (recebeu a indução química da menopausa) a dose de 0.5 UI/kg de peso corporal de insulina por via intraperitoneal após duas horas de jejum.

É evidenciado na literatura diversas alterações metabólicas na menopausa, como aumento da adiposidade, peso corporal, resistência à insulina (SELBAC et al., 2018; BITTO et. al, 2009), fortemente relacionadas como consequência da perda da função ovariana e a redução nos níveis de estrogênio (BITTO et. al, 2009). Um estudo realizado com ratas ooforectomizadas com 06 meses de idade, mostrou um aumento no peso corporal e resistência à insulina quando comparadas a ratas intactas da mesma idade (BITTO et. al, 2009). Já no presente estudo, observou-se apenas o aumento no peso corporal, de modo que a sensibilidade a insulina foi similar entre os grupos. Para Finch, o esgotamento da reserva folicular, que resulta na redução dos níveis de estrogênio é observada tanto em animais castrados como

em mulheres na menopausa, pois o processo de envelhecimento reprodutivo e a menopausa ocorrem de forma semelhante entre roedores e humanos (FINCH, 2014).

Um outro estudo que comparou a indução da menopausa de forma cirúrgica por ooforectomia e pelo tratamento com VCD, observou que ambos os modelos parecem estar relacionados com maior ganho de peso, aumento dos níveis de glicose e maior quantidade de deposição de gordura mamária e visceral quando comparados aos controles intactos (DAS et al., 2021). Porém, no presente estudo, a gordura visceral e a glicose não diferiram entre os grupos, sugerindo que modelos diferentes podem ser mais interessantes para estudo da menopausa em animais.

4. CONCLUSÕES

O presente estudo mostrou que a indução química da menopausa com composto VCD interfere apenas no ganho de peso, sem efeitos na gordura corporal e sensibilidade à insulina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BROOKS, HL; POLLON, 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.

FINCH, C. E. The menopause and aging, a comparative perspective. *J Steroid Biochem Mol Biol*, v. 142, p. 132-41, Jul 2014.

MINKIN, MJ. Menopause Hormones, Lifestyle, and Optimizing Aging. *Obstet Gynecol Clin N Am* 46: 501–514. 2019.

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.

SELBAC et al. Mudanças comportamentais e fisiológicas determinadas pelo ciclo biológico feminino – climatério à menopausa. *Aletheia* v.51, n.1-2, jan./dez. 2018. TINELLI A, TORRESIN L, MENIS T. La perimenopausa. Problematiche e opportunità terapeutiche [The perimenopause. Problems and therapeutic changes]. *Minerva Ginecol*. Italian. Aug;54(4):339-48. 2002.