

## EFEITO DA RESTRIÇÃO CALÓRICA NA RESISTENCIA A INSULINA EM CAMUNDONGOS

SHARA P. SODRÉ; JULIANE B. PROSCZEK; GABRIELA A. BLANCO; CAMILA L. MOREIRA; GIULIA C. PEREIRA<sup>2</sup>; AUGUSTO SCHNEIDER<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas – [sharasodre@gmail.com](mailto:sharasodre@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – [julianeprosczek@gmail.com](mailto:julianeprosczek@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas- [gabriela.altmayer.blanco15@gmail.com](mailto:gabriela.altmayer.blanco15@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas - [camila.lapischies@ufpel.edu.br](mailto:camila.lapischies@ufpel.edu.br)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – [giuliacpereira@gmail.com](mailto:giuliacpereira@gmail.com)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – [augustoschneider@gmail.com](mailto:augustoschneider@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Nas mulheres, o envelhecimento tem uma grande influência na capacidade reprodutiva. Além dos riscos decorrentes desse processo e maior disposição ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos, existe também um grave declínio na fertilidade (BROEKMANS; SOULES; FAUSER, 2009). Ao nascer a mulher já possui sua reserva ovariana pré-estabelecida para que atenda às suas necessidades reprodutivas ao longo da vida. A maior parte das células germinativas femininas passam por atresia folicular, e essa diminuição na reserva ovariana pode desencadear a chegada da menopausa. O início deste período, pode ser relacionado a um crescimento no número de incidências de doenças cardiovasculares, diabetes, osteoporose, função cognitiva e demência (GEORGAKIS; KALOGIROU; DIAMANTARAS; DASKALOPOULOU *et al.*, 2016).

A restrição calórica (RC) é uma abordagem nutricional que vêm demonstrando de forma consistente efeitos positivos no atraso de doenças relacionadas ao envelhecimento e aumento da expectativa de vida (BARTKE, 2005). Além de inúmeros estudos associando a RC com sua ação antienvelhecimento (CANTÓ; AUWERX, 2009; FLANAGAN; MOST; MEY; REDMAN, 2020), há também, pesquisas que apontam sua influência na redução da gordura visceral, incidência de doenças cardiovasculares e desenvolvimento de resistência à insulina (KEMNITZ; ROECKER; WEINDRUCH; ELSON *et al.*, 1994).

Em camundongos fêmeas, a RC demonstrou capacidade em preservar a reserva ovariana (SELESNIEMI; LEE; TILLY, 2008). Além disso, outro estudo feito com camundongos expostos à RC, mostrou que estes se mantiveram férteis por um intervalo de tempo mais prolongado em relação aos controles (NELSON; GOSDEN; FELICIO, 1985). Pode-se dizer que a RC pode prorrogar a fase fértil e adiar o início da menopausa, bem como suas complicações. Com isso, buscamos com esse estudo compreender os efeitos da RC na reserva ovariana e se os efeitos se mantêm com o retorno da alimentação *ad libitum*.

### 2. METODOLOGIA

Inicialmente, este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, número 23110.033054/2022-23. Foram utilizados 76 camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6, mantidos em condições controladas de luz e temperatura (22± 2°C, ciclos

de 12 horas claro/12 horas escuro) e alimentados com ração padrão para roedores e água ad libitum. Os camundongos foram divididos em grupo controle (n=27) e RC (n=31). Os grupos RC receberam uma quantidade 30% menor do que a média do consumo alimentar do grupo controle. Os dados de consumo alimentar do grupo controle foram coletados semanalmente, junto com o grupo de RC, sendo este ajustado semanalmente. O peso corporal dos animais também foi coletado semanalmente. Uma parte dos animais do grupo (n=7) controle voltou a receber alimentação ad libitum, aos 7 meses de idade.

Após os 6 meses de tratamento, e uma semana antes da eutanásia foi executado o teste de tolerância à insulina (TTI), onde foi administrada uma dose de 0,5 U/kg de peso corporal de insulina intraperitonealmente após duas horas de jejum. Amostras de sangue foram coletadas por meio de uma pequena incisão na ponta da cauda nos tempos de 0, 5, 20, 35 e 60 minutos após a injeção de insulina, sendo os níveis de glicose mensurados com um glicosímetro (AccuChek Activ, Roche Diagnostics®, USA) (FANG; WESTBROOK; HILL; BOPARAI *et al.*, 2013)

As análises estatísticas foram realizadas no software Graphpad Prism 8.0. O teste de ANOVA de uma via foi utilizado para análise do consumo e peso corporal, onde valores de  $P < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ganho de peso foi diferente entre os grupos de RC, controle e realimentação. Até a semana 15, o grupo submetido à RC obteve ganho menor em comparação com o grupo controle ( $p=0,0025$ ), no entanto, após o período de realimentação os resultados se equipararam aos do grupo controle. Os camundongos sujeito à RC contínua, apresentaram diferenças em relação ao grupo controle ao longo de todo o período de observação, exibindo um menor ganho de peso ( $p < 0,0001$ ). No entanto, apesar das variações de peso, os resultados do TTI não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Isto pode ser observado na Figura 2, onde está representada a curva glicêmica em resposta a insulina.

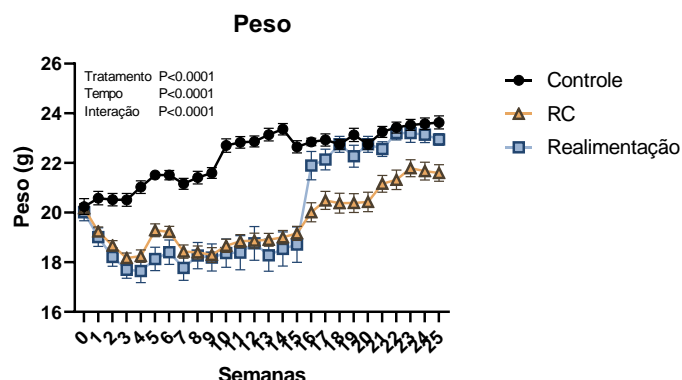


Figura 1 – Peso corporal em camundongos fêmeas no grupo controle, restrição calórica (RC) e realimentação que foram restritas por 4 meses e voltaram a receber alimento ad libitum.

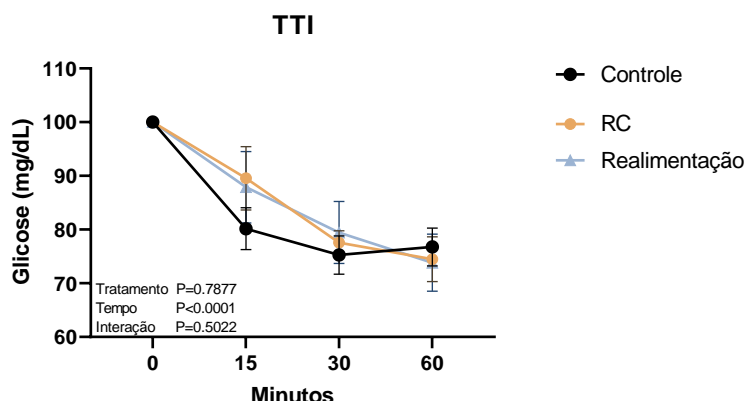


Figura 2 - Curva glicêmica em resposta ao teste de tolerância a insulina (TTI) em camundongos fêmeas no grupo controle, restrição calórica (RC) e realimentação que foram restritas por 4 meses e voltaram a receber alimento ad libitum.

Relatos na literatura demonstram que a RC, a longo prazo, favorece a sensibilidade à insulina, associada a baixos níveis de insulina e glicose, por ativar proteínas da via de sinalização da insulina. Resultados de uma pesquisa realizada em ratos, demonstraram que o transporte de glicose, estimulado pela insulina, foi reduzido no músculo esquelético dos animais em RC (DEAN; CARTEE, 2000). Porém, em nosso estudo não observamos mudanças significativas nas concentrações sanguíneas de glicose. A sensibilidade à insulina no organismo depende de mecanismo de regulação de genes da via de sinalização de insulina em diversos tecidos alvo da insulina e da interação entre esses tecidos em resposta ao tipo de dieta ou mutações que alteram a sinalização da insulina (DOMINICI; TURYN, 2002). Esta discrepância pode ser relacionada ao tipo e o período de restrição calórica, linhagem e/ou pelo fato de serem camundongos ainda jovens (3 e 9 meses).

#### 4. CONCLUSÕES

Nosso estudo mostrou que a RC em camundongos fêmeas leva a redução do peso corporal, mas não altera a sensibilidade à insulina em animais entre os 3 e 9 meses de idade.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTKE, A. Minireview: role of the growth hormone/insulin-like growth factor system in mammalian aging. **Endocrinology**, 146, n. 9, p. 3718-3723, Sep 2005.
- BROEKMANS, F. J.; SOULES, M. R.; FAUSER, B. C. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. **Endocr Rev**, 30, n. 5, p. 465-493, Aug 2009.
- CANTÓ, C.; AUWERX, J. Caloric restriction, SIRT1 and longevity. **Trends Endocrinol Metab**, 20, n. 7, p. 325-331, Sep 2009.
- DEAN, D. J.; CARTEE, G. D. Calorie restriction increases insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of insulin receptor and insulin receptor substrate-1 in rat skeletal muscle. **Acta Physiol Scand**, 169, n. 2, p. 133-139, Jun 2000.

DOMINICI, F. P.; TURYN, D. Growth hormone-induced alterations in the insulin-signaling system. **Exp Biol Med (Maywood)**, 227, n. 3, p. 149-157, Mar 2002.

FANG, Y.; WESTBROOK, R.; HILL, C.; BOPARAI, R. K. *et al.* Duration of rapamycin treatment has differential effects on metabolism in mice. **Cell Metab**, 17, n. 3, p. 456-462, Mar 05 2013.

FLANAGAN, E. W.; MOST, J.; MEY, J. T.; REDMAN, L. M. Calorie Restriction and Aging in Humans. **Annu Rev Nutr**, 40, p. 105-133, Sep 23 2020.

GEORGAKIS, M. K.; KALOGIROU, E. I.; DIAMANTARAS, A. A.; DASKALOPOULOU, S. S. *et al.* Age at menopause and duration of reproductive period in association with dementia and cognitive function: A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, 73, p. 224-243, Nov 2016.

KEMNITZ, J. W.; ROECKER, E. B.; WEINDRUCH, R.; ELSON, D. F. *et al.* Dietary restriction increases insulin sensitivity and lowers blood glucose in rhesus monkeys. **Am J Physiol**, 266, n. 4 Pt 1, p. E540-547, Apr 1994.

NELSON, J. F.; GOSDEN, R. G.; FELICIO, L. S. Effect of dietary restriction on estrous cyclicity and follicular reserves in aging C57BL/6J mice. **Biol Reprod**, 32, n. 3, p. 515-522, Apr 1985.

SELESNIEMI, K.; LEE, H. J.; TILLY, J. L. Moderate caloric restriction initiated in rodents during adulthood sustains function of the female reproductive axis into advanced chronological age. **Aging Cell**, 7, n. 5, p. 622-629, Oct 2008.