

# A OBESIDADE INDUZIDA PELO MÉTODO DE REDUÇÃO DE NINHADA SOBRE PARÂMETROS ESPERMÁTICOS E TESTICULARES DE RATOS EM IDADE PERIPUBERAL

*Gabrielle Chalupa Faria<sup>1</sup>, Larissa Rugila Stopa<sup>2</sup>, Ernane Torres Uchoa<sup>3</sup>, Glaura Scantamburlo Alves Fernandes<sup>4</sup>, Rafaela Pires Erthal<sup>5</sup>*

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Londrina/PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Londrina, Paraná, Brasil. Bolsista PIBIC/ICETI-Unicesumar. gabriellechalupafaria@hotmail.com

<sup>2</sup>Doutoranda em Ciências Fisiológicas, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, Paraná, Brasil. stopalarissa@gmail.com

<sup>3</sup> Pesquisador, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, Paraná, Brasil. euchoa@uel.br

<sup>4</sup>Pesquisadora, Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, Paraná, Brasil. glaura@uel.br

<sup>5</sup>Orientadora, Mestre em Patologia Experimental, Docente do Curso de Biomedicina da UniCesumar campus Londrina, Paraná, Brasil. rafaela.erthal@unicesumar.edu.br

## RESUMO

A Organização Mundial da Saúde aponta que a cada 5 crianças e adolescentes, uma é considerada obesa. Nessa idade a obesidade pode trazer consigo empecilhos que atrapalham no desenvolvimento saudável da criança desencadeando doenças crônicas e distúrbios de fertilidade. Isto pressuposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da obesidade induzida sob parâmetros reprodutivos de ratos em idade peripuberal. Para tanto, foram utilizados 20 ratos da linhagem Wistar que foram divididos em dois grupos: grupo controle (Normal Litter – NL) e o grupo obeso (Small Litter – SL) com ratos induzidos a obesidade através do método de redução de ninhada durante o período lactacional. Quando em idade peripuberal (Dia Pós Natal - PND60), os ratos foram eutanaziados e seus testículos direitos (n=5) foram direcionados ao processamento histológico. A partir das lâminas histológicas foram realizadas as seguintes análises: pesagem dos testículos em balança analítica, pesagem corpórea e morfologia espermática no qual 100 espermatozoides por animal foram classificados em normais ou anormais de acordo com alterações na cauda e na cabeça do espermatozoide. Os resultados obtidos mostraram que o grupo obeso apresentou aumento do peso corpóreo e testicular em relação ao grupo controle mostrando que o peso testicular acompanha o peso corpóreo, além disso, na morfologia espermática, não foi vista diferença significativa entre os grupos controle e obeso. A partir da realização do presente estudo, espera-se verificar se a obesidade durante a infância causa alterações na morfologia dos espermatozoides e por consequência na morfofisiologia dos testículos de forma a prejudicar a fertilidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Espermatozoides; Infertilidade Masculina; Obesidade Infantil; Testículo.

## 1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou a obesidade como um problema de saúde pública no mundo sendo que a sua prevalência já atinge proporções epidêmicas. No Brasil, segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2008-2009) realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia, o número de crianças acima do peso vem aumentando nos últimos anos, além disso, estudos sugerem que a duração da obesidade no decorrer na vida está diretamente ligada á piora das comorbidades. Além disso, sabe-se quando diagnosticada em crianças de até 12 anos de idade, a obesidade pode trazer consigo empecilhos para o desenvolvimento saudável podendo desencadear diversas doenças crônicas como colesterol e diabetes, complicações metabólicas e distúrbios de fertilidade. (MUST et al., 1992).

Estudos anteriores que utilizaram animais observaram o conceito de programação neonatal em que a exposição da ninhada á estímulos na fase inicial do desenvolvimento, quando o organismo está mais sensível ás alterações do meio, causa efeitos na vida adulta (BARKER, 1998). Além disso, sabe-se que a manipulação da ninhada de forma a alterar a sua alimentação durante o período perinatal causa alterações na regulação endócrina e metabólica na vida adulta. A partir disso, o método de redução de ninhada vem sendo

utilizado para observar as consequências que a alimentação em excesso durante a infância até a vida adulta pode causar sobre diversos parâmetros do organismo (RODRIGUES et al, 2007).

Existem vários estudos que avaliam os efeitos do método de redução de ninhada e suas consequências para a vida adulta do animal, porém, são poucos os que se direcionam para a idade peripuberal dos animais. Além disso, tendo em vista o crescente aumento do número de crianças e adolescentes obesos nos últimos anos faz-se necessário a realização de estudos que relacionem o método de redução de ninhada a consequências para o desenvolvimento. Sabe-se ainda, da existência de estudos experimentais que associam a obesidade a parâmetros de fertilidade, mas a maioria deles utiliza uma dieta hiperlipídica para induzir a obesidade e não o método de redução de ninhada. Sendo assim, o objetivo central do presente estudo foi avaliar os efeitos que a obesidade induzida através do método de redução de ninhada com uma dieta hiperlipídica pôde causar em parâmetros espermáticos e testiculares de ratos em idade peripuberal, além disso, objetivamos também avaliar se a obesidade teve a capacidade de alterar a morfologia espermática e o peso testicular e corpóreo dos ratos em idade peripuberal.

Tendo isso pressuposto, a pesquisa em questão é de grande contribuição para a sociedade brasileira visto que, a obesidade vem atingindo crianças e adolescentes por todo o país fazendo-se necessário a realização de pesquisas que sejam capazes de alertar as entidades governamentais a respeito dos riscos que essa doença pode trazer para a saúde pública e para a população.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram utilizados 20 ratos da linhagem Wistar obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Sendo o Dia Pós Natal 0 (DPN0) considerado o dia do nascimento. No DPN3 as ninhadas foram reajustadas e os animais divididos em dois grupos experimentais, no grupo obeso (ninhada pequena, Small Litter – SL) foram mantidos 3 filhotes, sendo 2 machos e 1 fêmea, por mãe e no grupo controle (ninhada normal, Normal Litter – NL) foram mantidos 10 filhotes, sendo 5 machos e 5 fêmeas, por mãe (RODRIGUES, et al. 2009). Os animais foram mantidos em Biotério no departamento de Ciências fisiológicas, com temperatura ( $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e luz (ciclo de 12h claro/escuro) controladas, e tiveram disponibilidade 24 horas de água e alimento, exceto nas horas que precederam a eutanásia. Após o período experimental os filhotes foram submetidos à eutanásia por decapitação. Todos os procedimentos realizados com os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina – CEUA/UEL (OF. CIRC. CEUA Nº. 87/2020).

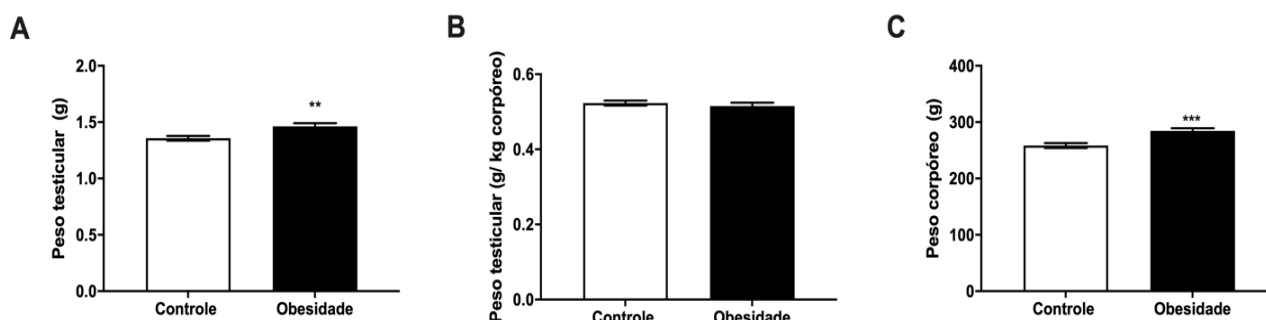
No Biotério Central da UEL no DPN21, após o desmame os machos foram divididos em seus respectivos grupos NL ou SL e mantidos dessa forma até o DPN51, quando os animais foram pesados e posteriormente submetidos à eutanásia por decapitação, os testículos direitos foram pesados em balança analítica.

Para realizar a análise de morfologia espermática, o ducto deferente dos animais foi seccionado em suas extremidades anterior e posterior e seu interior foi lavado com 1,0 ml de solução formol salina com o auxílio de agulha e seringa. O conteúdo foi coletado em eppendorf e armazenado em geladeira para análise posterior. Para realizar a análise, 50 $\mu\text{L}$  da solução foi adicionado em uma lâmina e por cima foi acrescentado uma lamínula, feito isso as lâminas foram analisadas em microscópio óptico no aumento de 400x de forma a analisar 100 espermatozoides por animal. Os espermatozoides foram classificados como normais ou anormais de acordo com possíveis alterações na cauda (enrolada, quebrada e isolada) ou na cabeça (sem curvatura característica e isolada) (FILLER, 1993).

Com relação ao método estatístico utilizado, o teste de Shapiro Wilk foi realizado para avaliar a normalidade de distribuição dos dados e o teste de Bartlett foi utilizado para avaliar a homogeneidade das variâncias, atingidos os pressupostos foi feito teste paramétrico (teste-t) para verificação de diferença de média entre os dois grupos.

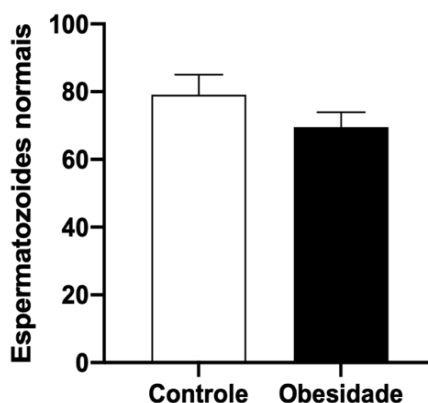
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com a análise do resultado do peso corpóreo e do peso testicular, foi possível concluir que o objetivo foi atingido, de forma que a obesidade induzida alterou o peso corpóreo ( $284.5 \pm 4.5$ ) e peso testicular ( $284.5 \pm 4.5$ ) na vida juvenil (DPN60) dos ratos do grupo obeso (SL) em comparação ao grupo controle ( $258.6 \pm 4.3$ ;  $1.36 \pm 0.02$ ; respectivamente). (Figura 1) Por outro lado, o peso testicular relativo não apresentou alterações no grupo obeso ( $0.52 \pm 0.006$ ) em relação ao grupo controle. ( $0.51 \pm 0.009$ ), esses dados mostram que o peso testicular aumentou juntamente com o peso corpóreo, evidenciando mais uma vez que o objetivo foi atingido.



**Figura1:** Parâmetros biométricos. (A) Peso testicular absoluto; (B) Peso testicular relativo; (C) Peso corpóreo.

Em relação ao objetivo de avaliar se a obesidade induzida pelo método de redução de ninhada sob os parâmetros reprodutivos de ratos em idade peripuberal afetaria a morfologia dos espermatozoides foi atingido, uma vez que foi possível avaliar a morfologia dos espermatozoides dos animais utilizados no presente estudo. O gráfico em questão demonstra que na análise morfológica dos espermatozoides, não foi observada diferença estatística entre os grupos controle e obesidade. Sendo assim, a obesidade induzida durante a infância não foi suficiente para alterar significativamente a morfologia dos espermatozoides.



**Figura 1:** Morfologia espermática

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que a obesidade induzida pelo método de redução de ninhada durante um período crítico para o desenvolvimento testicular, que é a puberdade, foi suficiente para causar alteração no peso testicular e corpóreo, embora não tenha alterado a qualidade da morfologia espermática. Dessa forma, todos os objetivos foram atingidos, porém, a hipótese de que a obesidade induzida durante a infância teria a capacidade de causar alterações na morfologia dos espermatozoides e conseqüentemente no funcionamento do órgão reprodutor masculino, foi refutada uma vez que não foram achados dados estatísticos que a confirmem, fazendo-se necessário a realização de mais estudos nessas condições experimentais. Entretanto, é válido ressaltar que o presente estudo mostrou que a obesidade induzida durante a infância foi capaz de alterar o peso testicular e o peso corpóreo dos animais durante a peripuberdade, podendo-se assim concluir que a obesidade foi capaz de comprometer o desenvolvimento testicular pós-natal.

#### REFERÊNCIAS

BARKER, D.J. In utero programming of chronic disease. **Clinical Science**, v. 95, p. 115 – 128 1998.

FERNANDES, G. S.; ARENA, A. C.; FERNANDEZ, C. D.; MERCADANTE, A.; BARBISAN, L. F.; KEMPINAS, W. G. Reproductive effects in male rats exposed to diuron. **ReprodToxicol.**, v. 23, p.106-112, 2007.

FILLER, R. Methodsfor evaluation of ratsepididymal sperm morphology. In Male reproductive toxicology. Edited by: Chapin RE, Heindel JH. San Diego, California: Academic Press.,Inc; p. 334-343,1993.

MUST, A. et al. Longterm morbidity and mortality of overweight adolescents: a follow-up of the Harvard Growth Study 1922 to 1935. **N Engl J Med**, v. 327, p. 1350-1355, 1992.

RODRIGUES, A.L. et al. Low expression of insulin signaling molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition. **J Endocrinol.V.** 195, p. 485–94, 2007;

TORTORA, G. J.; NIELSEN, M. T. **Princípios de anatomia humana.** 14.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.