

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL

VICTÓRIA BUENO BARRETO

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE
GESTRINONA NO TECIDO ÓSSEO DE RATAS OBESAS COM DIETA
HIPERLIPÍDICA**

PONTA GROSSA

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL

VICTÓRIA BUENO BARRETO

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE
GESTRINONA NO TECIDO ÓSSEO DE RATAS OBESAS COM DIETA
HIPERLIPÍDICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciada em Biologia, curso de Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dionizia Xavier Scomparin

PONTA GROSSA

2024

Dedico este trabalho aos meus pais

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, que me deu forças e a direção necessária para seguir em frente. Sem o Senhor, eu não seria nada.

Gratidão ao meu pai, que já não está mais nesse mundo, mas que enquanto esteve aqui, proporcionou uma base sólida que me direcionou a ser quem sou. E à minha mãe, um símbolo de força, que me acompanha e me motiva a ser alguém melhor todos os dias. Tenho muito orgulho de ser filha de pais tão maravilhosos.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Dionizia Xavier Scomparin, pelos ensinamentos e pela confiança depositada em mim.

Aos membros da banca Prof^o. Dr^o. Eduardo Campagnoli, que esteve presente, auxiliando desde o começo deste trabalho e Prof^o. Dr^o. Adalberto Ferreira Junior, que me apresentou à Fisiologia Humana e foi o responsável por me cativar por ela. Ambos foram cruciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Núcleo Avançado de Estudos da Vida pelo fornecimento das ratas e da estrutura para realização deste estudo. Ao laboratório de Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa e seus técnicos, cujas estruturas foram cruciais para o desenvolvimento do estudo. Em especial à Maria, técnica que me auxiliou em todos os momentos.

Ao CNPq pela bolsa concedida e à Fundação Araucária com fomento número PBA2022011000208 pelo auxílio fornecido ao laboratório.

Finalmente, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho desse certo.

“Eu nunca vejo o que já foi feito. Eu somente vejo o que ainda falta para ser feito.”

Marie Curie

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação do modelo experimental. Ratas fêmeas e adultas foram alimentadas por 12 semanas com DN (dieta normal) ou HFD (dieta hiperlipídica) e 3 vezes por semana receberam 0,1% de dimetilsulfóxido diluído em óleo de soja contendo, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.....14
- Figura 2 - Imagens representativas da porcentagem de área cortical e medular entre ratas controle (CTL) e obesas (HFD) que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.....18
- Figura 3 - Efeito do tratamento de gestrinona nas áreas cortical e medular dos campos analisados do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL) que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.....19
- Figura 4 - Imagens representativas da presença de osteócitos (A) e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos (B) entre ratas controle (CTL) e obesas (HFD) que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg....21
- Figura 5 - Efeito do tratamento de gestrinona na porcentagem de osteócitos e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos da região cortical do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL) que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.....22
- Figura 6 - Peso corporal registrado ao longo de 10 semanas do período experimental em ratas alimentadas com ração normal (CTL) ou hiperlipídica (HFD), que receberam ou não, 3x por semana, 0,26 ou 0,52 mg de gestrinona/kg de peso corporal.....23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média em micrômetros e desvio padrão das espessuras cortical e medular dos campos analisados do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL), que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.....	17
Tabela 2 - Porcentagem de osteócitos e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos dos campos analisados do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL), que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.....	20

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	13
3.2 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL.....	15
3.3 TÉCNICAS HISTOLÓGICAS.....	15
3.4 ANÁLISE DE LÂMINAS.....	16
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
4. RESULTADOS	17
4.1 ESPESSURA E ÁREA CORTICAL E MEDULAR.....	17
4.2 CONTAGEM DE OSTEÓCITOS E LACUNAS SEM A PRESENÇA DO NÚCLEO DE OSTEÓCITOS PRESENTES NA ÁREA CORTICAL.....	19
4.3 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL.....	22
5. DISCUSSÃO	24
6. CONCLUSÃO	25
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
8. ANEXO	29
8.1 ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO.....	29

RESUMO

BARRETO, V. B. **Efeitos da administração de diferentes concentrações de gestrinona no tecido ósseo de ratas obesas com dieta hiperlipídica.**

Orientadora: Dionizia Xavier Scomparin. Ponta Grossa, 2024. Dissertação (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Ponta Grossa - Campus Uvaranas, Ponta Grossa, 2024.

A obesidade, definida por excesso de gordura corporal, ocasiona uma redução da longevidade e está associada a diversas patologias. Como uma forma de tratamento da redução de gordura e aumento de massa muscular tem sido recomendado a utilização de esteróides anabólicos androgênicos. Essa classe de hormônios exercem efeitos em diversas partes do organismo, entre eles, os tecidos ósseo e muscular. Nas mídias sociais a gestrinona, derivado sintético da 19-nortestosterona, tem circulado como um potencial agente para a perda de massa gorda e ganho de massa magra, sem comprovação científica. Assim, o presente estudo teve como objetivo analisar os efeitos da administração de diferentes concentrações de gestrinona no tecido ósseo de ratas obesas com dieta hiperlipídica. Os resultados obtidos foram expressos como média e desvio padrão e valor de p inferior a 0,05 foi adotado como critério de significância. Estatisticamente, não houve diferença significativa nas espessuras ($p=0,05$) e áreas ($p=0,783$) das regiões ósseas cortical e medular, assim como, na porcentagem de osteócitos e lacunas sem o núcleo de osteócitos ($p= 0,347$) entre os grupos analisados de ratas controle (CTL) e ratas obesas (HFD), que receberam ou não 0,26 ou 0,52 mg de gestrinona/kg. Na avaliação do peso, houve diferença (ANOVA, $p < 0,05$). Ou seja, a gestrinona preveniu o desenvolvimento da obesidade, principalmente, em ratas com dieta hiperlipídica, que receberam 0,26 mg/kg ou 0,52 mg/kg de gestrinona.

Palavras-chave: Tecido ósseo; perda de peso; gestrinona; chip da beleza; hormônios andrógenos.

1 INTRODUÇÃO

A obesidade, definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como o excesso de gordura corporal que pode causar prejuízos à saúde, afeta cerca de 600 milhões de pessoas em todo o mundo (Gómez Puente; Martínez-Marcos, 2018). Essa doença tem uma natureza multifatorial resultante de fatores genéticos, epigenéticos, fisiológicos, comportamentais, socioculturais e ambientais que levam a um desequilíbrio entre a ingestão e o gasto de energia durante um longo período de tempo (Bray *et al.*, 2016). A obesidade ocasiona um encurtamento da expectativa de vida e a mortalidade resulta de doenças que estão associadas a ela, incluindo diabetes, doença renal crônica, doença gastrointestinal e doença cardiovascular. Além de que manter a perda de peso é frequentemente difícil ou mal sucedido (Bray *et al.*, 2016).

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo, formado por células e por material extracelular calcificado, a matriz óssea (Junqueira e Carneiro, 2019). Sendo o principal constituinte do esqueleto, ele atua como suporte para as partes moles do corpo, protege órgãos vitais, acomoda e protege a medula óssea e proporciona apoio aos músculos esqueléticos. Além disso, funciona como depósito de cálcio, fosfato e outros íons, armazenando-os ou liberando-os de maneira controlada e sempre que preciso (Salmito-Vanderley e Santana, 2015). Este tecido ósseo possui três tipos de células: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos (Junqueira e Carneiro, 2019) e é constituído por uma porção cortical, composta pela matriz óssea e por um canal medular. Os osteócitos, células achatadas, em forma de amêndoa (Salmito-Vanderley E Santana, 2015), ocupam pequenos espaços da matriz óssea, chamados de lacunas e são responsáveis por manter essa matriz, realizando sua manutenção (Junqueira e Carneiro, 2019).

Os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são sintéticos derivados da testosterona, muito utilizados em clínicas médicas por conta das suas propriedades anabólicas maximizadas (Kuhn, 2002). Estes exercem os seus efeitos em diversas partes do organismo, particularmente nos tecidos reprodutivos, muscular e ósseo (Gonzaga, 2016).

Segundo Notelovtitz (2002), os androgênios endógenos influenciam a função das células ósseas e aumentam a densidade mineral óssea (DMO) em mulheres pré-menopáusicas adolescentes e adultas, com hirsutismo e ainda, aquelas que possuem a síndrome dos ovários policísticos (SOP). A progesterona estimula a

mineralização do osso recém-formado e aumenta a formação do osso cortical. Como exemplo de um androgênio exógeno, temos o decanoato de nandrolona, que quando usado junto com terapia hormonal, aumenta significativamente a DMO. (Notelovitz, 2002).

A gestrinona, derivado sintético da 19-nortestosterona (Ciou *et al.*, 2022), é um progestágeno (esteróide triênico) com efeitos antiestrogênicos (Lobo *et al.*, 2008), androgênicos e progestogênicos. Além de ações antigonadotrópica e antiprogesterona (Venturini *et al.*, 1989), a gestrinona possui a capacidade de inibir eficazmente o volume de miomas uterinos humanos (Ciou *et al.*, 2022) e apresenta bons resultados no tratamento da endometriose (Lobo *et al.*, 2008).

Segundo Borges *et. al* (2020), a única forma segura e legal para o uso dos esteroides anabólicos androgênicos (EAA) de acordo com a Lei nº 9.965 da ANVISA, 2000, é por meio de prescrição médica, onde a utilização de EAA deverá ser feita em clínicas e destinada à pacientes com alguma doença, não podendo ser administrado em outras circunstâncias. Porém, a gestrinona tem sido comercializada como um implante hormonal subcutâneo, conhecido como “chip da beleza”, que promete ganho de massa muscular e perda de gordura corporal. Entretanto, este não possui dados científicos relacionados aos seus efeitos sob a gordura corporal, massa muscular e ainda, tecido ósseo.

A gestrinona, EAA que inibe miomas uterinos e é eficaz no tratamento de endometriose, tem sido divulgada, sem comprovação científica, como agente benéfico para ganho de massa magra e perda de gordura corporal. Após pesquisas, não encontrou-se na literatura trabalhos avaliando os possíveis efeitos da gestrinona no tecido ósseo, portanto, julgou-se necessário esse estudo, visando verificar os efeitos da administração de diferentes concentrações de gestrinona (0,26 mg/kg e 0,52 mg/kg) sobre o tecido ósseo de ratas obesas com dieta hiperlipídica, levando em consideração que.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar os efeitos da administração de gestrinona de 0,26 mg/kg e 0,52 mg/kg sobre o tecido ósseo de ratas controle e obesas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar se houve diferença significativa na estrutura microscópica das áreas ósseas cortical e medular de ratas obesas e controle, que receberam ou não 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.

Analisar se houve diferença nos números de osteócitos e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos em ratas obesas e controle, que receberam ou não 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.

Avaliar se houve diferença no ganho de peso total em ratas obesas e controle, que receberam ou não 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Essa pesquisa trata-se de uma pesquisa de natureza básica, exploratória, experimental (in vivo) e quantitativa, que faz parte de um projeto de pesquisa maior. Na presente pesquisa utilizou-se modelo animal e todos os procedimentos experimentais realizados foram previamente aprovados pela CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais) da UEPG, Processo n^o.: 22.000039757-9, em anexo.

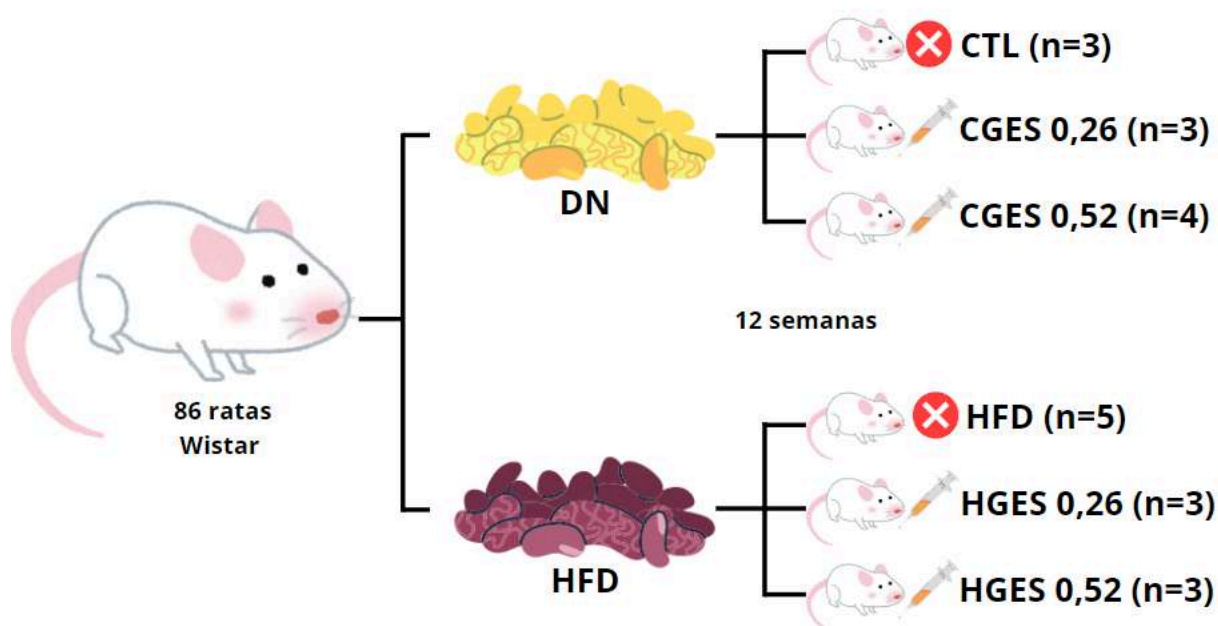
3.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS

No estudo, foram analisados 21 fêmeas de ratas Wistar fêmeas e adultas (80-90 dias de vida) foram obtidas e mantidas sob condições padronizadas de temperatura ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade e luminosidade (luzes acesas das 7h às 19h) no NAEVI (Núcleo Avançado de Estudos da Vida) do SEBISA, UEPG, Campus Uvaranas. Vale destacar que foi optado por ratas fêmeas, pois a gestrinona é predominantemente utilizada em mulheres. Os animais foram divididos em seis grupos experimentais e por 12 semanas (tempo de indução à obesidade) as ratas foram alimentadas com ração padrão (DN) ou hiperlipídica (HFD), recebendo gavagem via oral que poderia conter ou não a gestrinona, como segue:

- CTL: foram alimentadas com dieta normal (ração padrão) e receberam 3 vezes por semana, por gavagem, 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) diluído em óleo de soja, não contendo gestrinona;
- CGES 0,26: foram alimentadas com dieta normal (ração padrão) e receberam 3 vezes por semana, por gavagem, 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) diluído em óleo de soja, contendo 0,26 mg de gestrinona/kg;
- CGES 0,52: foram alimentadas com dieta normal (ração padrão) e receberam 3 vezes por semana, por gavagem, 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) diluído em óleo de soja, contendo 0,52 mg de gestrinona/kg;
- HFD: foram alimentadas com dieta hiperlipídica (alto teor lipídico) e receberam 3 vezes por semana, por gavagem, 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) diluído em óleo de soja, não contendo gestrinona;
- HGES 0,26: foram alimentadas com dieta hiperlipídica (alto teor lipídico) e receberam 3 vezes por semana, por gavagem, 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) diluído em óleo de soja, contendo 0,26 mg de gestrinona/kg;

- HGES 0,52: foram alimentadas com dieta hiperlipídica (alto teor lipídico) e receberam 3 vezes por semana, por gavagem, 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) diluído em óleo de soja, contendo 0,52 mg de gestrinona/kg;

Figura 1 - Representação do modelo experimental. Ratas fêmeas e adultas foram alimentadas por 12 semanas com DN (dieta normal) ou HFD (dieta hiperlipídica) e 3 vezes por semana receberam 0,1% de dimetilsulfóxido diluído em óleo de soja contendo, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.



Fonte: da autora

A HFD foi produzida a partir da dieta normal comercial, sendo adicionada banha de porco e óleo de soja para aumentar o teor lipídico, e houve correção do conteúdo proteico com adição da proteína caseína (De Souza *et al.*, 2007).

A concentração de 0,26 mg de gestrinona/kg de peso corporal que foi administrada aos grupos CGES 0,26 e HGES 0,26 foi baseada na conversão da dose de 2,5 mg administrada em humanos (Coutinho, 1982; Dawood *et al.*, 1997; Kauppila *et al.*, 1988; Venturini *et al.*, 1989). Para os grupos CGES 0,52 e HGES 0,52, como indicado no modelo experimental, a dose utilizada foi de 0,52 mg de gestrinona/kg. Esta foi estipulada utilizando duas vezes a dose indicada para o tratamento da endometriose, portanto, a dose estimada de ingestão em humanos seria de 5 mg. Assim, considerando as várias diferenças morfofuncionais entre humanos e ratos, as doses de 2,5 e 5 mg administrada em humanos, foi como anteriormente supracitado estimada para a dose administrada a ratos, por alometria

conforme a fórmula:

$$\text{“HED (mg/kg) = DA x Km rato/Km humano”}$$

Na fórmula, “HED” refere-se à dose equivalente a humanos em mg/kg; “DA” à dose animal e “Km” ao fator específico a cada animal, obtido pela divisão do peso corporal pela superfície corporal (Reagan-Shaw; Nihal; Ahmad, 2008).

A gavagem foi administrada via oral, 3 vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feiras), onde 0,1% de dimetilsulfóxido era diluído em óleo de soja e poderia, ou não, conter 0,26 ou 0,52 mg de gestriona/kg.

3.2 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL

Ao longo do período experimental, as ratas foram pesadas e o peso corporal de cada rata obtido na última semana foi subtraído do peso corporal registrado no início do experimento, para se obter o ganho total de peso corporal.

3.3 TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

Após a eutanásia (feita com atmosfera de isoflurano e posteriormente, decapitação), foi coletado um total de 21 ossos fêmures sendo preservados em solução fixadora (formol a 10% tamponado). Os fêmures foram descalcificados em solução de EDTA 4%, que foi escolhido dentre outras soluções, uma vez que, esta solução é a que menos interfere na arquitetura tecidual, preservando a estrutura celular e causando menos danos que podem interferir na qualidade final da coloração (Kammerman *et al.*, 1994). O preparo da solução utilizada continha a seguinte composição: para cada 1000 mL (mililitros) de água destilada, acrescentava-se 41,3 g (gramas) de EDTA e 4,4 g (gramas) de hidróxido de sódio. Primeiramente, dissolveu-se pouco a pouco o hidróxido de sódio (microperola) e sequencialmente, o EDTA.

Após a diluição completa, com o auxílio do pHmetro, o pH da solução foi medido e precisava estar em 8. Os fêmures foram submersos na solução de EDTA 4% e levados à mesa de agito constante (mesa agitadora) e a troca da solução ocorria a cada dois dias, O processo de descalcificação era verificado semanalmente, até obter-se o transpasse total de um alfinete pela peça anatômica. Levando de 2 a 3 meses até a descalcificação completa do material.

Posteriormente à descalcificação, houve a secção dos materiais ao meio separando a cabeça do fêmur do restante e posteriormente, realizado o

processamento histológico, onde passaram pelas fases de desidratação (série de álcoois), diafanização (xilol) e impregnação (parafina fundida a 60 °C). Os fêmures foram emblocados (incluídos) em parafina e em seguida submetidos à microtomia com cortes na espessura de 5 micrômetros. A coloração das lâminas foi feita por hematoxilina-eosina (HE).

3.4 ANÁLISE DE LÂMINAS

Imagens microscópicas das lâminas coradas em HE foram obtidas em microscópio óptico Olympus BX41 (Olympus Latin America), com o auxílio do programa Cellsens (2010). Foi selecionado o melhor corte de cada lâmina e analisados cinco campos. As imagens foram capturadas em duas objetivas diferentes, sendo capturado em primeiro momento, cortical e medular em objetiva 4x e em seguida, a medular em 40x. Posteriormente, a espessura das áreas cortical e medular foram medidas de maneira linear em cinco regiões diferentes (aleatórias) e os osteócitos e as lacunas sem a presença do núcleo dos osteócitos foram contadas. Ambos pelo programa ImageJ (versão 1.53).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente foi verificada a normalidade dos dados por meio do teste Shapiro-Wilk. Em variáveis com distribuição normal usou-se o teste ANOVA (teste paramétrico) e para dados sem distribuição normal usou-se o teste Kruskal-Wallis (teste não paramétrico). Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. O valor de p inferior a 0,05 foi adotado como critério de significância. O software estatístico utilizado foi o Jamovi (versão 1.2.27.0) e os gráficos foram confeccionados no software Graphpad Prism (versão 9.0).

4 RESULTADOS

4.1 ESPESSURA E ÁREA CORTICAL E MEDULAR

Os valores de espessura e área cortical medular estão presentes na tabela 1. Não foi verificado diferença significativa (ANOVA, $p=0,05$) na espessuras das regiões ósseas cortical e medular entre os grupos de ratas controle (CTL), com dieta normal e ratas obesas (HFD), com dieta hiperlipídica, que receberam ou não 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.

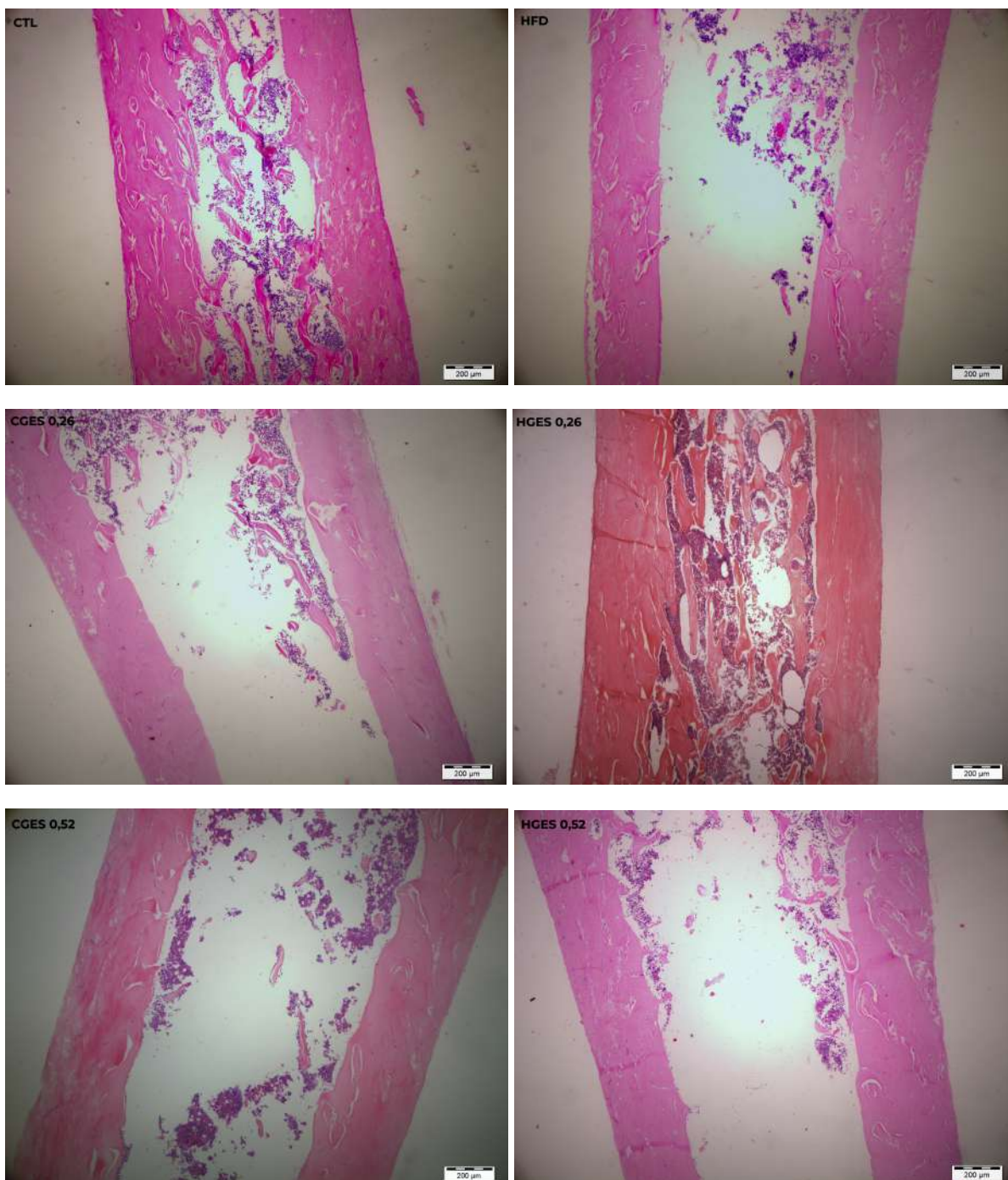
Tabela 1 - Média em micrômetros e desvio padrão das espessuras cortical e medular dos campos analisados do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL), que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.

Grupos experimentais	Média em micrômetros	
	Espessura Cortical (DV)	Espessura Medular (DV)
CTL	329 (21.2)	752 (167)
HFD	360 (11.2)	826 (108)
CGES 0,26	338 (31.6)	793 (97.7)
CGES 0,52	363 (35.6)	591 (256)
HGES 0,26	330 (6.47)	875 (160)
HGES 0,52	384 (29.9)	757 (117)

Fonte: da autora

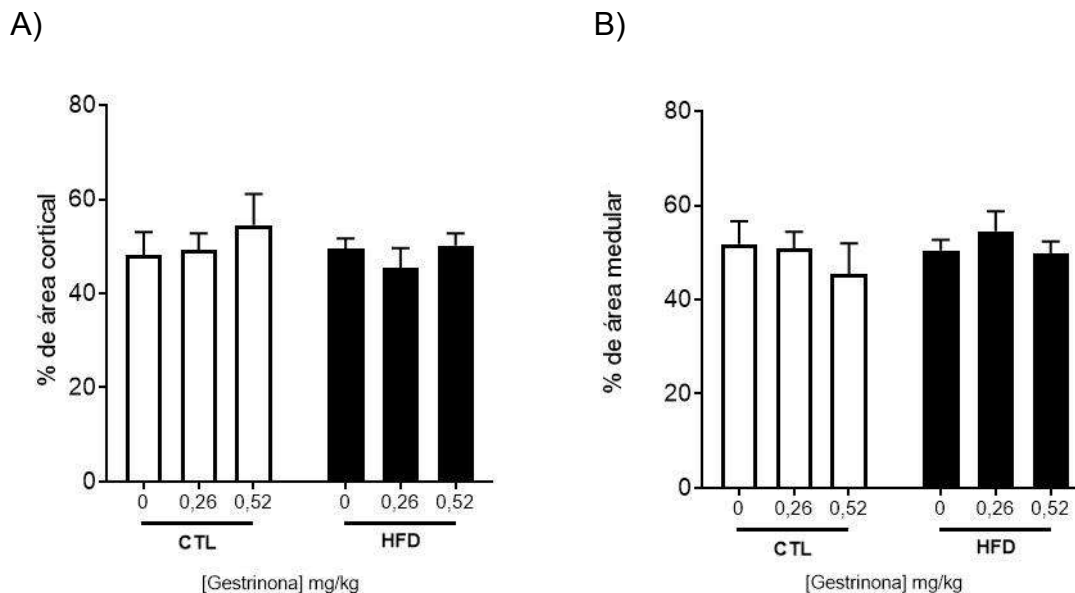
A figura 2 apresenta uma imagem histológica de cada grupo estudado e a figura 3, mostra que não houve diferença significativa (ANOVA, $p=0,783$) na área das regiões ósseas cortical (A) e medular (B), entre os grupos de ratas controle (CTL), com dieta normal e ratas obesas (HFD), com dieta hiperlipídica, que receberam ou não 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.

Figura 2 - Imagens representativas da porcentagem de área cortical e medular entre ratas controle (CTL) e obesas (HFD) que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.



Fonte: da autora

Figura 3 - Efeito do tratamento de gestrinona nas áreas cortical e medular dos campos analisados do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL) que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.



Fonte: da autora

Nota: CTL (n= 3), CGES0,26 (n = 3), CGES0,52 (n = 4), HFD (n = 5), HGES0,26 (n = 3) e HGES0,52 (n=3). Média \pm EPM da porcentagem de área cortical (A) e da porcentagem de área medular (B). Dados analisados por ANOVA de uma via ($p= 0,783$).

4.2 CONTAGEM DE OSTEÓCITOS E LACUNAS SEM A PRESENÇA DO NÚCLEO DE OSTEÓCITOS PRESENTES NA ÁREA CORTICAL

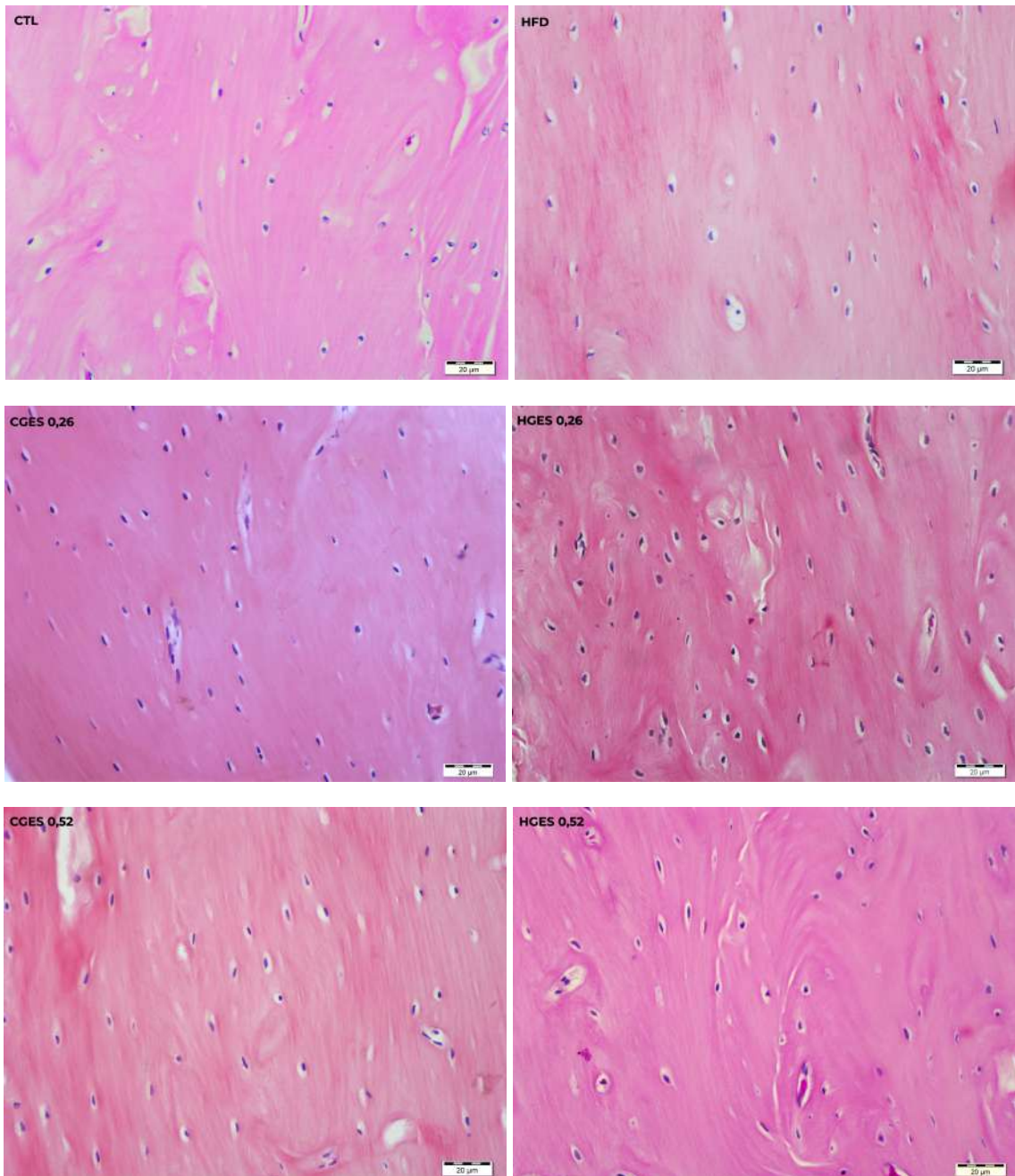
A figura 4 apresenta imagens representativas da presença de osteócitos e lacunas sem a presença o núcleo de osteócitos, de cada grupo estudado e a figura 5, mostra que não houve diferença estatística (Kruskal-Wallis, $p= 0,347$) na porcentagem de osteócitos e lacunas sem o núcleo de osteócitos entre os grupos analisados de ratas controle (CTL), com dieta normal e ratas obesas (HFD), com dieta hiperlipídica, que receberam ou não 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg. A porcentagem de osteócitos permaneceu maior que a porcentagem de lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos, como vemos na tabela 2.

Tabela 2 - Média de porcentagem de osteócitos e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos dos campos analisados do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL), que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.

Grupos experimentais	Média de	
	Porcentagem de osteócitos (DV)	Porcentagem de lacunas vazias (DV)
CTL	73.5 (14.5)	26.5 (14.5)
HFD	66.6 (11.8)	33.4 (11.8)
CGES 0,26	62.6 (1.93)	37.4 (1.93)
CGES 0,52	63.7 (7.21)	37.4 (7.21)
HGES 0,26	67.1 (1.93)	32.9 (1.93)
HGES 0,52	58.2 (8.21)	41.8 (8.21)

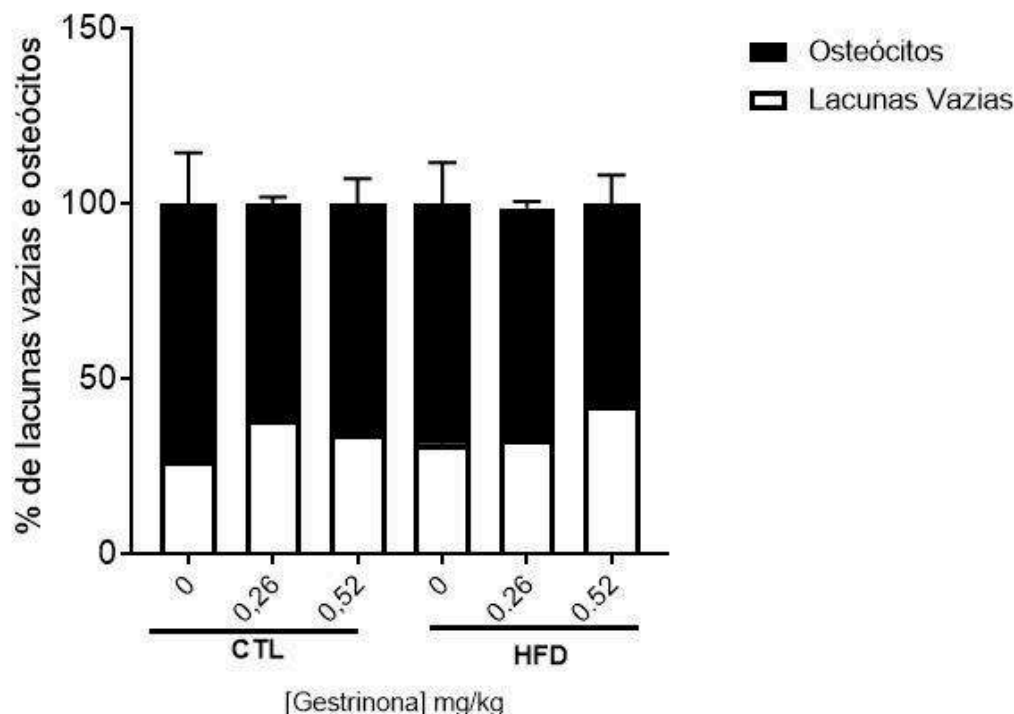
Fonte: da autora

Figura 4 - Imagens representativas da presença de osteócitos e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos entre ratas controle (CTL) e obesas (HFD) que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.



Fonte: da autora

Figura 5 - Efeito do tratamento de gestrinona na porcentagem de osteócitos e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos da região cortical do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL) que receberam, ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.



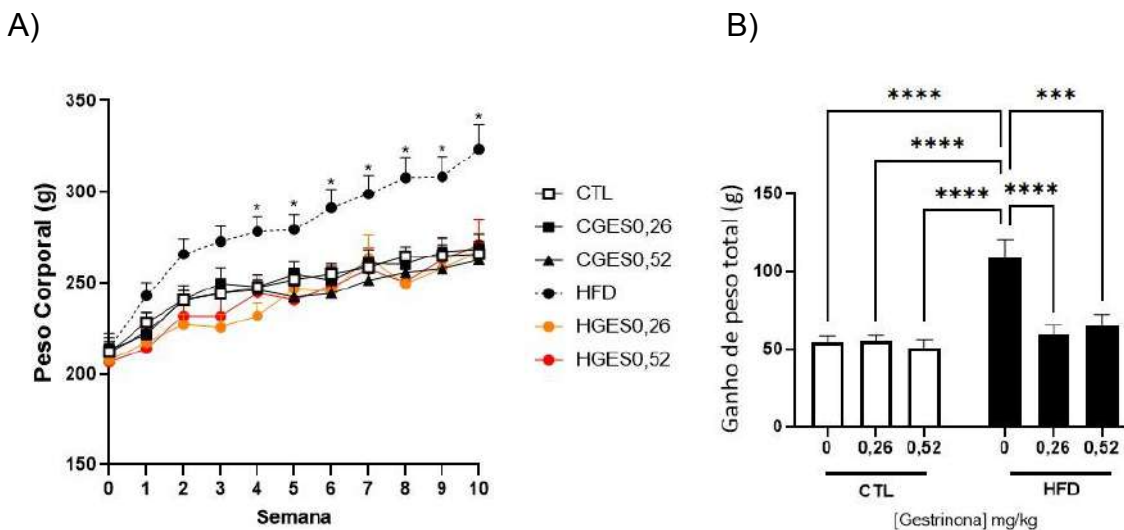
Fonte: da autora

Nota: CTL (n= 3), CGES0,26 (n = 3), CGES0,52 (n = 4), HFD (n = 5), HGES0,26 (n = 3) e HGES0,52 (n=3). Média \pm EPM da porcentagem de osteócitos e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos. Dados analisados por ANOVA de uma via seguida do pós-teste Kruskal-Wallis ($p= 0,347$).

4.3 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL

A gestrinona foi administrada instantaneamente à indução à obesidade. Conforme observamos na figura 6 (A), só começaram as mudanças no peso corporal (g) a partir da 4ª semana. As ratas com dieta hiperlipídica que não receberam nenhuma concentração de gestrinona (HFD) tiveram um ganho de peso superior (figura 6B) e estatisticamente, houve diferença (ANOVA, $p < 0,05$). Ou seja, a gestrinona preveniu o desenvolvimento da obesidade, principalmente, em ratas com dieta hiperlipídica, que receberam concentrações de gestrinona (0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg).

Figura 6 - Peso corporal registrado ao longo de 10 semanas do período experimental em ratas alimentadas com ração normal (CTL) ou hiperlipídica (HFD), que receberam ou não, 3x por semana, 0,26 ou 0,52 mg de gestrinona/kg de peso corporal.



Fonte: da autora

Nota: CTL (n = 3), CGES0,26 (n = 3), CGES0,52 (n = 4), HFD (n = 5), HGES0,26 (n = 3) e HGES0,52 (n=3). Média \pm EPM do ganho total de peso corporal (B). Dados analisados por ANOVA de 2 vias seguida do pós-teste Tukey. As linhas sobre as barras demonstram as diferenças entre os grupos indicados. *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 e ****p < 0,0001

5 DISCUSSÃO

Neste trabalho, a dosagem de 0,26 mg de gestrinona/kg, que é apontada como a dosagem adequada ao tratamento da endometriose (Coutinho, 1982; Dawood *et al.*, 1997; Kauppila *et al.*, 1988; Venturini *et al.*, 1989) e a dose de 0,52 mg de gestrinona/kg, que seria o dobro da dose apontada como adequada para o tratamento de endometriose, não provocaram mudanças no perfil ósseo.

Ao compararmos, podemos concluir que assim como apontado por Coutinho (1982), tanto a dose de 0,26 mg de gestrinona/kg, como a de 0,52 mg de gestrinona/kg não causaram efeitos microscópicos sobre o metabolismo ósseo. Uma vez que não houveram alterações significativas nas espessuras cortical e medular dos campos analisados do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL), que receberam ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg. Ou seja, diferentemente dos androgênios endógenos citados por Notelovitz (2002), a gestrinona administrada na frequência de três vezes por semana durante 12 semanas (andrógeno exógeno), não altera a densidade mineral óssea (DMO), não aumentando as regiões ósseas cortical e medular.

Assim como, vemos que não há alterações entre os números de osteócitos e lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos, permanecendo uma quantidade superior de osteócitos e uma quantidade inferior de lacunas sem a presença do núcleo de osteócitos nos campos analisados da área cortical do fêmur de ratas obesas (HFD) e controle (CTL), que receberam ou não, 0,26 mg de gestrinona/kg ou 0,52 mg de gestrinona/kg.

Quando observamos a evolução do peso corporal, comprova-se a perda de peso, principalmente, em ratas que foram alimentadas com dieta hiperlipídica (HFD) que receberam gestrinona. Ou seja, houve uma atenuação do desenvolvimento da obesidade (Coutinho, 1982; Dawood *et al.*, 1997; Kauppila *et al.*, 1988; Venturini *et al.*, 1989), diminuindo a gordura corporal.

É necessário destacar que com uma possível diferença no período de tempo, dosagens e “n” amostral, pode haver possibilidade de alterações significativas nos resultados. Ou seja, há necessidade de maiores avaliações sobre os efeitos da gestrinona no tecido ósseo.

6 CONCLUSÃO

Em um período de 12 semanas e dosagens de 0,26 mg/kg ou 0,52 mg/kg, a gestrinona não afetou microscópicamente o tecido ósseo. Entretanto, a gestrinona inibiu o desenvolvimento da obesidade, principalmente, em ratas obesas com dieta hiperlipídica que receberam 0,26 mg/kg ou 0,52 mg/kg.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, H. L.; OLIVEIRA, A. H. S.; BOURSCHEID, D. G. **Efeitos Colaterais De Hormônios Sintéticos Em Atletas Do Sexo Feminino**. Revista Thêma et Scientia – Vol. 10, nº1, jan/jun 2020. Disponível em:<<https://themaetscientia.fag.edu.br/index.php/RTES/article/view/1126/1159>>. Acesso em: 10 out. 2024.

BRAY, George A.; FRÜHBECK, Gema; RYAN, Donna H.; WILDING, John P. H. **Management of obesity**. *The Lancet*, Londres, v. 387, n. 10031, p. 1947-1956, 7 mai. 2016. Disponível em:<[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(16\)00271-3/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(16)00271-3/abstract)>. Acesso em: 25 ago. 2024.

CIOU, H.-H. et al. **Repurposing gestrinone for tumor suppressor through P21 reduction regulated by JNK in gynecological cancer**. *Translational Research*, v. 243, p. P21-32, 2022.

COUTINHO, E. M. **Treatment of endometriosis with gestrinone (R-2323), a synthetic antiestrogen, antiprogestosterone**. *Am J Obstet Gynecol*, v. 144, n. 8, p. 895–898, 1982.

COUTINHO, E. M. **Gestrinone in the treatment of myomas**. *Acta Obstet Gynecol Scand*, v. 150, p. 39–46, 1989.

DAWOOD, M. Y. et al. **Clinical, endocrine, and gestrinone in treatment metabolic effects of two of pelvic endometriosis**. *Am J Obstet Gynecol*, v. 176, p. 387–394, 1997

DE SOUZA, C.T., ARAUJO, E.P., STOPPIGLIA, LF, Pauli, JR, ROPELLE, E., ROCCO, S.A., MARIN, R.M., FRANCHIN, K.G., CARVALHEIRA, J.B., SAAD, M.J., BOSCHERO, A.C., CARNEIRO, E.M., VELLOSO, L.A. **Inhibition of UCP2 expression reverses diet-induced diabetes mellitus by effects on both insulin secretion and action**. *FASEB J* 21(4):1153–1163, 2007.

Dia Mundial da Obesidade. Biblioteca Virtual de Saúde (BVS). Ministério da Saúde. Disponível em: <<https://bvsmis.saude.gov.br/04-3-dia-mundial-daobesidade/>>. Acesso: 23 de fev. de 2023.

DIMENSTEIN, Izak. **Grossing Bones: Principles, Techniques and Instruments**. CreateSpace Independent Publishing Platform, 13 jul. 2017.

FELISBINO-MENDES, M. S. et al. **The burden of non-communicable diseases attributable to high BMI in Brazil, 1990-2017: Findings from the Global Burden of Disease Study**. *Population Health Metrics*, v. 18, n. 1, p. 1–13, 2020.

GÓMEZ PUENTE, J. M.; MARTÍNEZ-MARCOS, M. **Overweight and obesity: effectiveness of interventions in adults**. *Enfermería Clínica (English Edition)*, Barcelona, v. 28, n. 1, p. 65-74, jan./fev. 2018. DOI: 10.1016/j.enfcli.2017.06.005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2017.06.005>>. Acesso em: 25 ago. 2024.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. 13. ed. [Reimpr.]. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

KAMMERMAN, J.R.; PROPHET, E.B.; BARNES, C.F. - **Chapter 13 - Orthopedic Histotechnology**, In: Prophet, E.B.; Mills, B.; Arrington, J.B. & Sobin, L.H. – *Armed Forces Institute of Pathology. Laboratory Methods in Histotechnology*, Washington, D.C., 1994, p. 71-79.

KAUPPILA, A. et al. **Hypoprolactinemia and ovarian function**. *Fertility and sterility*, v. 49, n. 3, p. 437–441, 1988.

KUHN, C. M. **Anabolic steroids**. *Recent Progress in Hormone Research*, New York, v. 57, p. 411-34, 2002.

LOBO, V. L. R. et al. **Does gestrinone antagonize the effects of estrogen on endometrial implants upon the peritoneum of rats?** *Clinics*, v. 63, p. 525–530, 2008.

NOTELOVITZ, M. Androgen effects on bone and muscle. **Fertility and Sterility**, New York, v. 77, n.4, suppl. 4, apr. 2002.

REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. **Dose translation from animal to human studies revisited**. *FASEB Journal*, Bethesda, v. 22, n. 3, p. 659-661, mar. 2008. DOI: 10.1096/fj.07-9574LSF. Disponível em: <<https://doi.org/10.1096/fj.07-9574LSF>>. Acesso em: 25 ago. 2024.

RIBEIRO, P.C.P. **O uso indevido de substâncias: esteroides anabolizantes e energéticos**. In: Associação Mineira de adolescência e cidadania. Associação Brasileira de Adolescência. Belo Horizonte – Minas Gerais: p. 97- 101, 200.

SALMITO-VANDERLEY, C. S. B.; SANTANA, I. C. H. **Histologia e embriologia animal comparada**. 2. ed. Fortaleza: EDUECE, 2015.

TORRES, Alexandre Garuffi; SILVA, Cibele da Glória Heitor; SILVA, Thamiris Leonel Tavares da; TAKAHASHI, Juliana Possatto Fernandes. **Técnicas de processamento histológico e citológico em serviços de patologia clínica: uma revisão da literatura**. *Plural – Revista Acadêmica*, v. 2, n. 3, maio 2023.

VENTURINI, P. L. et al. **Endocrine, metabolic, and clinical effects of gestrinone in women with endometriosis**. *Fertility and Sterility*, v. 52, n. 4, p. 589–595, 1989.

8 ANEXO

8.1 ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO

22/09/2023, 11:03

SEI/UEPG - 1082406 - Carta



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

CARTA
CARTA DE APROVAÇÃO

Protocolo UEPG – 22.000039757-9

Título – Efeito da administração de gestriona sobre a adiposidade, homeostase da glicose e de lipídeos, e morfologia de órgãos do sistema endócrino, reprodutivo, renal e do trato gastrointestinal em ratas Wistar

Interessado – Profa. Dra. Rosane Aparecida Ribeiro

E-mail: raribeiro@uepg.br

Data de Entrada – 15/06/2022

Resultado: Aprovado

Considerações

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG) certifica que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa acima especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), estabelecida pelo Conselho Nacional para fins de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Dessa forma, fica autorizada a utilização de 142 (cento e quarenta e dois) ratas fêmeas Wistar.



Documento assinado eletronicamente por **Edmar Miyoshi**, Membro da Comissão - PROFESP/CEUA, em 05/08/2022, às 13:38, conforme Resolução UEPG CA114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **1082406** e o código CRC **0B7CD7F5**.

22.000039757-9

1082406v2