

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA À GLICOSE DURANTE O
PERÍODO DE LACTAÇÃO E PÓS-DESMAME NO MODELO
EXPERIMENTAL DE DIABETE GESTACIONAL**

Milena Silva Agostini

Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Inhasz Kiss

Prof^a. Dr^a. Marina Galleazzo Martins

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP,
para obtenção de Bacharel em Ciências Biomédicas.

**BOTUCATU – SP
2023**

MILENA SILVA AGOSTINI

**Avaliação da tolerância à glicose durante o período de lactação e pós-desmame no
modelo experimental de diabetes gestacional**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção de Bacharel em Ciências
Biomédicas.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Inhasz Kiss
Coorientadora: Prof^a Dr^a. Marina Galleazzo
Martins

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA ANDRADE CRUZ E SANTOS-CRB

Agostini, Milena Silva.

Avaliação da tolerância à glicose durante o período de lactação e pós-desmame no modelo experimental de diabetes gestacional / Milena Silva Agostini. - Botucatu, 2023

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Ana Carolina Inhasz Kiss

Coorientador: Marina Galleazzo Martins

Capes: 20701004

1. Diabetes. 2. Lactação. 3. Prenhez. 4. Roedores. 5. Testes de tolerância a glicose.

Palavras-chave: Diabetes; Lactação; Prenhez; Roedores; Tolerância à glicose.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de Iniciação Científica concedida (Processo 2022/03616-1).

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	7
METODOLOGIA	10
RESULTADOS	11
LEGENDAS E FIGURAS	12
DISCUSSÃO	17
CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

RESUMO

O diabetes *mellitus* gestacional (DMG) é uma desordem metabólica que pode levar a uma série de complicações a curto e longo prazo para a mãe e seus descendentes. Uma das formas de diagnóstico do DMG é o teste de tolerância oral à glicose (TTOG). Apesar de diversos estudos indicarem um risco aumentado para o desenvolvimento de DM2 e, também, para recorrência de DMG em gestações subsequentes, gestantes diagnosticadas com DMG geralmente não passam por um acompanhamento da glicemia no período pós-parto. Para melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos pelos quais o DMG afeta o organismo materno, diversos modelos experimentais foram desenvolvidos. Relatos na literatura sobre como a glicemia materna evolui no período pós-parto são escassos. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a tolerância à glicose durante o período de lactação e pós-desmame no modelo experimental de diabete gestacional. Para avaliar o perfil glicêmico dos animais foi empregado um teste de tolerância oral à glicose (TTOG) em diferentes momentos. Primeiramente foi realizado o TTOG para obtenção de uma medida basal no dia pós-natal (DPN) 75. Em seguida, o TTOG foi realizado durante a prenhez (dia de prenhez (DP) 15), repetido na lactação (DPN 5 e DPN 14) e 4 dias após o desmame da ninhada (DPN 25) para avaliar o metabolismo da glicose nesses diferentes períodos. A hiperglicemia moderada foi induzida no DP 7 através da administração de streptozotocina (STZ). Parte das ratas prenhes (Grupo STZ, n=15) receberam injeção intraperitoneal de STZ, diluído em tampão citrato, enquanto que as demais fêmeas (Grupo Controle, n=9) receberam somente tampão citrato. Houve um efeito significativo de período, mostrando que a tolerância à glicose variou de acordo com o período reprodutivo. No entanto, não foi observada interação do metabolismo com o período reprodutivo, demonstrando que, apesar de os animais apresentarem diferenças nesses parâmetros, não há interação entre eles, ou seja, as curvas glicêmicas se comportam de maneira semelhante apesar das ratas hiperglicêmicas apresentarem intolerância à glicose. Como conclusão, ocorreu uma mudança no perfil glicêmico dos animais no período pós-parto quando comparado ao período de prenhez. No entanto, apesar das ratas com diabete gestacional apresentarem intolerância à glicose, o comportamento das curvas glicêmicas foi semelhante em ambos os grupos nos diferentes períodos.

Palavras-chave: diabete; tolerância à glicose; prenhez; lactação; roedores.

INTRODUÇÃO

O diabetes *mellitus* (DM) é um conjunto de doenças metabólicas causadas pela deficiência completa ou parcial da secreção e/ou ação da insulina, que provoca um quadro característico de hiperglicemia (American Diabetes Association, 2014). Segundo a Federação Internacional de Diabete (IDF), aproximadamente 537 milhões de adultos vivem com diabetes e se prevê que esse número irá aumentar cada vez mais nas próximas décadas (IDF Diabetes Atlas, 2021).

Existem diversos tipos de DM descritos na literatura, dentre os quais podem ser destacados o DM tipo 1 (DM1), o DM tipo 2 (DM2) e o DM gestacional (DMG). O DM1 é caracterizado por uma deficiência completa de insulina devido à destruição autoimune das células beta pancreáticas. O DM2, por sua vez, é caracterizado, inicialmente, pela resistência periférica à insulina, que pode ou não ser associada a uma deficiência de secreção da mesma. Já durante a gestação, o diabetes pode se apresentar de duas formas: como diabetes clínico, em mulheres diagnosticadas com DM1 ou DM2 antes da gestação, ou DMG, diagnosticado pela primeira vez no segundo ou terceiro trimestre de gravidez (American Diabetes Association, 2021).

Durante a gestação saudável, o organismo materno passa por uma série de ajustes metabólicos para atender às demandas do feto em crescimento (PLOWES *et al.*, 2018). Um desses ajustes está na alteração da sensibilidade à insulina. A sensibilidade à insulina aumenta no começo da gestação, promovendo a captação de glicose nas reservas adiposas, para suprir a demanda energética da gravidez tardia (DI CIANNI *et al.*, 2003). Entretanto, conforme a gestação progride, com o estabelecimento da placenta, ocorre uma diminuição fisiológica da sensibilidade à insulina no organismo materno, mediada por hormônios placentários (BAEYENS *et al.*, 2016), como o hormônio de crescimento e o lactogênio placentário (HILL, 2018). Com a redução da sensibilidade à insulina, os tecidos adiposo e muscular reduzem a captação da glicose, aumentando sua disponibilidade na corrente sanguínea, o que é essencial para que mais glicose esteja disponível para captação pela placenta para suprir as necessidades energéticas do feto em desenvolvimento. Entretanto, essas adaptações podem não ocorrer adequadamente em todas as gestações. A resistência à insulina pode ser exacerbada, estabelecendo-se assim um quadro de hiperglicemia, caracterizando o DMG (PLOWES *et al.*, 2018).

O DMG pode levar a uma série de complicações a curto e longo prazo para a mãe e seus descendentes (JOHNS *et al.*, 2018). A principal consequência para os descendentes são as malformações congênitas que podem afetar vários sistemas de órgãos, resultando em mortalidade pré ou pós natal (DAMASCENO *et al.*, 2013) e, a longo prazo, há uma maior predisposição de desenvolvimento de DM2, doenças cardiovasculares (DCV) e obesidade (PLOWS *et al.*, 2018). Para a saúde materna, há um risco aumentado para complicações perinatais, tais como pré-eclâmpsia e cesariana (BILLIONNET *et al.*, 2017). Além disso, a mãe possui maior risco de desenvolver DM2 após o diagnóstico de DMG (BELLAMY *et al.*, 2009), bem como um risco aumentado de síndrome metabólica e doença cardiovascular (SPAIGHT *et al.*, 2016; SHOSTROM *et al.*, 2017).

Devido ao risco para a mãe e seus descendentes, é importante que o DMG seja diagnosticado o mais precocemente possível, para que seja iniciado o tratamento. Uma das formas de diagnóstico do DMG é o teste de tolerância oral à glicose (TTOG), realizado entre a 24ª e 28ª semana de gestação em mulheres sem diagnóstico prévio de diabetes (American Diabetes Association, 2021). Esse teste consiste no oferecimento de uma solução com 75g de glicose à gestante, e a realização da dosagem de glicose plasmática em jejum, 1 e 2 horas após a ingestão da solução. O diagnóstico de DMG é feito quando os valores de glicose plasmática em jejum, 1 hora e 2 horas é atingido ou excedido em 92 mg/dL (5,1 mmol/L), 180 mg/dL (10,0 mmol/L), e 153 mg/dL (8,5 mmol/L) respectivamente (American Diabetes Association, 2021). Para fim diagnóstico, o TTOG é realizado em um momento pontual da gestação. Entretanto, as mulheres diagnosticadas com DMG geralmente não passam por um acompanhamento da glicemia durante o período pós-natal, mesmo que diversos estudos na literatura indiquem um risco aumentado para o desenvolvimento de DM2 (BELLAMY *et al.*, 2009) e, também, para recorrência de DMG em gestações subsequentes (SCHWARTZ; NACHUM; GREEN, 2015). Entender melhor como se comporta o perfil glicêmico materno no período pós-natal pode trazer informações relevantes para auxiliar a nortear estudos clínicos, possibilitando diagnóstico e tratamento precoces de eventuais complicações, como o DM2, amenizando os impactos sobre a mãe e seus descendentes. Um estudo realizado por Crowther *et al.* concluiu que o tratamento do diabetes gestacional reduz a morbidade perinatal grave e pode melhorar a qualidade de vida relacionada à saúde da mulher (CROWTHER *et al.*, 2005).

Com o objetivo de melhor compreender os mecanismos fisiopatológicos pelos quais o DMG afeta o organismo materno, diversos modelos animais foram desenvolvidos (KISS *et al.*,

2009). A streptozotocina (STZ) é um agente beta-citotóxico comumente utilizado para induzir hiperglicemia em roedores e, dependendo da dose, via ou linhagem animal utilizada, a administração de STZ pode resultar em quadros de hiperglicemia grave ou moderada (KISS *et al.*, 2009). Através da administração de STZ durante a prenhez, é possível estabelecer um quadro de hiperglicemia moderada (OH; GELARDI; CHA, 1988; OLIVEIRA, 2021), com glicemia entre 120 e 300 mg/dl, semelhante ao de gestantes com DMG, sendo um bom modelo experimental para estudar o quadro hiperglicêmico desse estado patológico (DAMASCENO *et al.*, 2013).

Apesar de diversos artigos descreverem os efeitos da hiperglicemia na tolerância à glicose de ratas antes (KISS *et al.*, 2013) e durante a prenhez (KISS *et al.*, 2012; MARTINS *et al.*, 2021), dados sobre o perfil glicêmico no período de lactação e pós-desmame são escassos. O nosso grupo de pesquisa investigou o perfil glicêmico de ratas *Wistar* através de um modelo experimental de indução da hiperglicemia pela administração de STZ no período neonatal, mimetizando o quadro de diabetes clínico, no qual o animal já entra na prenhez hiperglicêmica. Através desse modelo, foram observadas variações no perfil glicêmico antes do acasalamento, durante a prenhez e após o desmame dos filhotes (KISS; DAMASCENO; WOODSIDE, 2021). No entanto, essas alterações não foram exploradas no modelo de diabetes gestacional, no qual a hiperglicemia é induzida durante a prenhez, em período análogo ao surgimento do diabetes gestacional em seres humanos. Acompanhar o perfil glicêmico materno é relevante para avaliar as condições às quais a prole está suscetível durante a lactação, e também para o próprio organismo materno, com relação ao risco de desenvolver DM2 posteriormente (BELLAMY *et al.*, 2009).

Já está muito bem documentado que o estado hiperglicêmico materno está associado a uma série de complicações para a mãe e o feto (JOHNS *et al.*, 2018). Por isso, entender como se comporta o perfil glicêmico materno após a gestação, ou seja, no período de lactação e pós-desmame, através de um modelo que melhor mimetize o estado fisiopatológico do DMG pode ajudar a compreender os impactos sobre o organismo materno. Diversos relatos na literatura descrevem os efeitos do diabetes sobre a gravidez, glicemia e desenvolvimento fetal, mas esses estudos não investigaram como o perfil glicêmico materno é modificado no período pós-natal. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a tolerância à glicose durante o período de lactação e pós-desmame no modelo experimental de diabetes gestacional. Nossa hipótese foi que a tolerância à glicose materna sofreria modificações no período pós-parto e que a

intolerância à glicose na prenhez estabelecida pelo modelo experimental de diabetes gestacional seria modificada na lactação e após o desmame.

METODOLOGIA

Foram utilizados ratos machos e fêmeas da linhagem Sprague-Dawley obtidos do biotério do Centro Multidisciplinar de Pesquisa Biológica (CEMIB – Universidade Estadual de Campinas, SP), mantidos sob condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade ($50 \pm 10\%$), ciclo claro/escuro de 12/12 horas, e água e ração à vontade. Os procedimentos propostos foram submetidos para apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Biociências de Botucatu antes do início dos experimentos (Protocolo 9257170322).

Para avaliar o perfil glicêmico dos animais foi empregado um teste de tolerância oral à glicose (TTOG) em diferentes momentos. O TTOG foi conduzido seguindo o mesmo protocolo previamente descrito por Martins *et al.* (2021). Após jejum de 6 horas, as ratas receberam solução de glicose 2 g/kg (200 g/L) por gavagem. Amostras de sangue da veia caudal foram obtidas 0, 15, 30, 60 e 120 minutos após a administração da solução de glicose, e a glicemia foi medida com o auxílio de um glicosímetro (Accu-Chek® Performa). A variação glicêmica ao longo do teste foi avaliada calculando-se a área total sob a curva (AUC), usando o método trapezoide (TAI, 1994).

Primeiramente foi realizado o TTOG para obtenção de uma medida basal no dia pós-natal (DPN) 75. Somente animais que apresentaram perfil glicêmico dentro da normalidade foram incluídos no presente estudo. Em seguida, o TTOG foi realizado durante a prenhez (dia de prenhez (DP) 15) para validar o modelo experimental de diabetes gestacional. Posteriormente, o TTOG foi repetido na lactação (DPN 5 e DPN 14) e 4 dias após o desmame da ninhada (DPN 25) para avaliar o metabolismo da glicose nesses diferentes períodos.

Por volta do dia pós-natal (DPN) 80, as fêmeas foram colocadas para acasalar com machos controle no final do dia. Na manhã seguinte, a prenhez foi confirmada através da presença de espermatozoides no esfregaço vaginal e foi considerado o dia de prenhez (DP) 0. A hiperglicemia moderada foi induzida no DP 7 através da administração de streptozotocina (STZ), um modelo experimental de indução de diabetes bem estabelecido. Parte das ratas prenhes (Grupo STZ, n=15) receberam injeção intraperitoneal de 35 mg/kg de STZ (SIGMA Chemical Company, St. Louis, Millstone), diluído em tampão citrato 0,1 M e pH 4,5, enquanto

as demais fêmeas (Grupo Controle, n=9) receberam somente tampão citrato (0,1 M, pH 4,5) via intraperitoneal (OLIVEIRA, 2021; adaptado de OH W., GELARDI N. L., CHA C. J., 1988). Apenas ratas prenhes com hiperglicemia moderada (120- 300 mg/dL) foram incluídas no presente estudo. Portanto, após a administração de STZ obtivemos 2 grupos experimentais, sendo eles: Controle (fêmeas normoglicêmicas, n=9) e STZ (fêmeas hiperglicêmicas, n=15).

Análise estatística

Os dados do Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTOG) obtidos a partir desse experimento foram analisados com auxílio do software JASP (versão 0.16.1). Primeiramente foi realizada uma análise exploratória para detecção e exclusão de animais *outliers* através do Z score e animais com Z-score maior que 3 ou menor que -3 foram excluídos do presente estudo. Foi realizada uma ANOVA de medidas repetidas para o período pré-prenhez com tempo como medida repetida (glicemia 0, 15, 30, 60 e 120) e metabolismo materno como fator (mãe normoglicêmica ou hiperglicêmica). Em seguida, foi realizada uma ANOVA de medidas repetidas com o tempo como medida repetida, e metabolismo materno e o período (prenhez, lactação (DPN 05 e DPN 14) e pós-lactação) como fatores. Os dados da área sob a curva glicêmica do TTOG (AUC) do período pré-prenhez foram analisados com ANOVA univariada com metabolismo materno como fator e, posteriormente, com uma ANOVA de 2 vias, sendo o metabolismo materno e o período como fatores. Para as análises que envolveram a avaliação do período reprodutivo foi usado um teste Post Hoc de Tukey. Os resultados apresentados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.), sendo considerado o limite mínimo de significância de 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Os dados obtidos da glicemia materna da pré-prenhez foram analisados e não foram encontradas diferenças significativas entre os animais designados para os diferentes grupos experimentais.

A análise das curvas glicêmicas nos diferentes períodos reprodutivos revelou que, como esperado, houve efeito significativo de tempo ($F(4, 352)=187,77$, $p<0,001$, $\eta=0,680$), mostrando que a glicemia dos animais sofreu variação ao longo do TTOG. Houve efeito significativo de metabolismo ($F(1, 88)=24,290$, $p < 0,001$, $\eta=0,216$), assim como interação significativa tempo X metabolismo ($F(4, 352)=12,166$, $p < 0,001$, $\eta=0,121$), mostrando que os

animais que receberam o STZ são intolerantes a glicose, reforçando a validade do modelo experimental utilizado. Houve também efeito significativo de período ($F(3, 88)=4,687$, $p=0,004$, $\eta=0,138$) e interação significativa tempo X período ($F(12, 352)=18,428$, $p < 0,001$, $\eta=0,386$), mostrando que a tolerância à glicose variou de acordo com o período reprodutivo. No entanto, não houve interação do metabolismo com o período reprodutivo ($F(3, 88)=0,250$, $p=0,861$, $\eta=0,008$) nem interação significativa de Tempo X Metabolismo X Período ($F(12, 352)=0,853$, $p=0,595$, $\eta=0,028$), demonstrando que, apesar de os animais apresentarem diferenças nesses parâmetros, não há interação entre eles, ou seja, as curvas glicêmicas se comportam de maneira semelhante apesar das ratas hiperglicêmicas apresentarem intolerância à glicose.

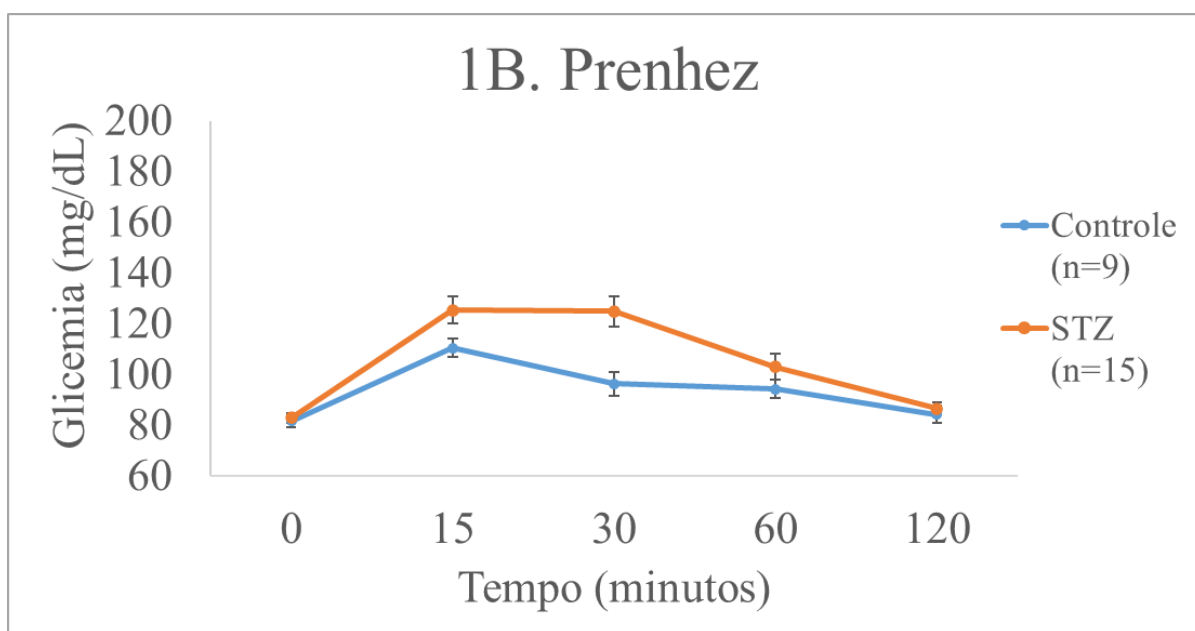
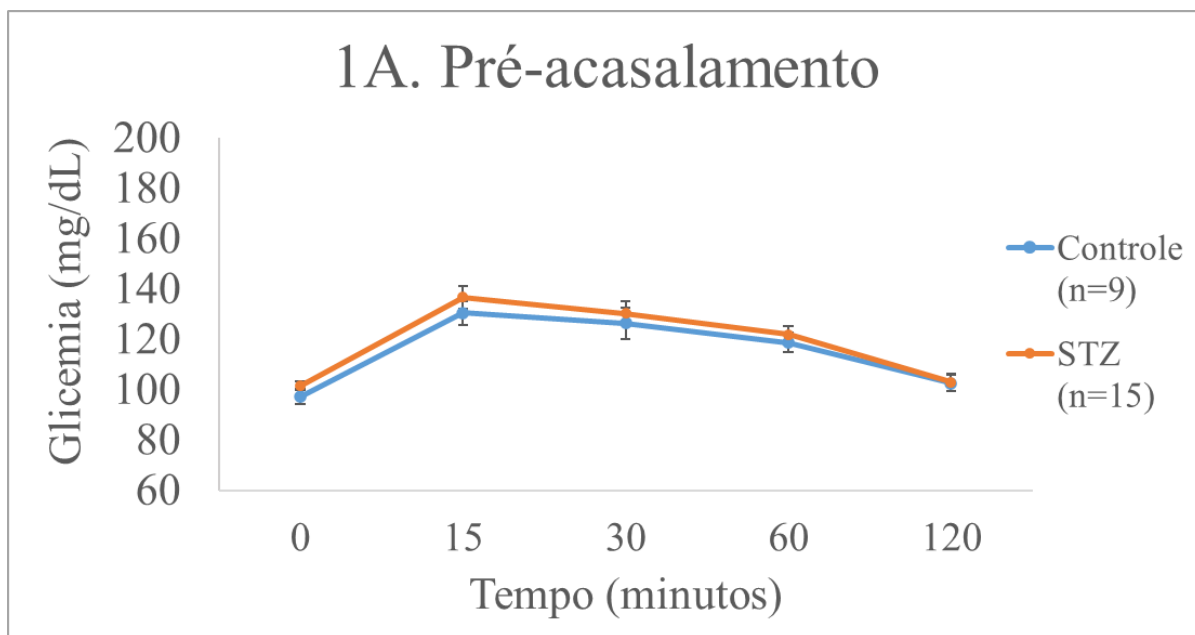
O teste Post Hoc para período demonstrou que a tolerância à glicose na prenhez difere dos períodos posteriores: lactação (DPN 05) ($t=-2,691$, $p=0,042$), lactação (DPN 14) ($t=-2,683$, $p=0,043$), e pós-lactação ($t=-3,511$, $p=0,004$), mostrando que o metabolismo materno durante a prenhez é diferente da lactação e pós-lactação.

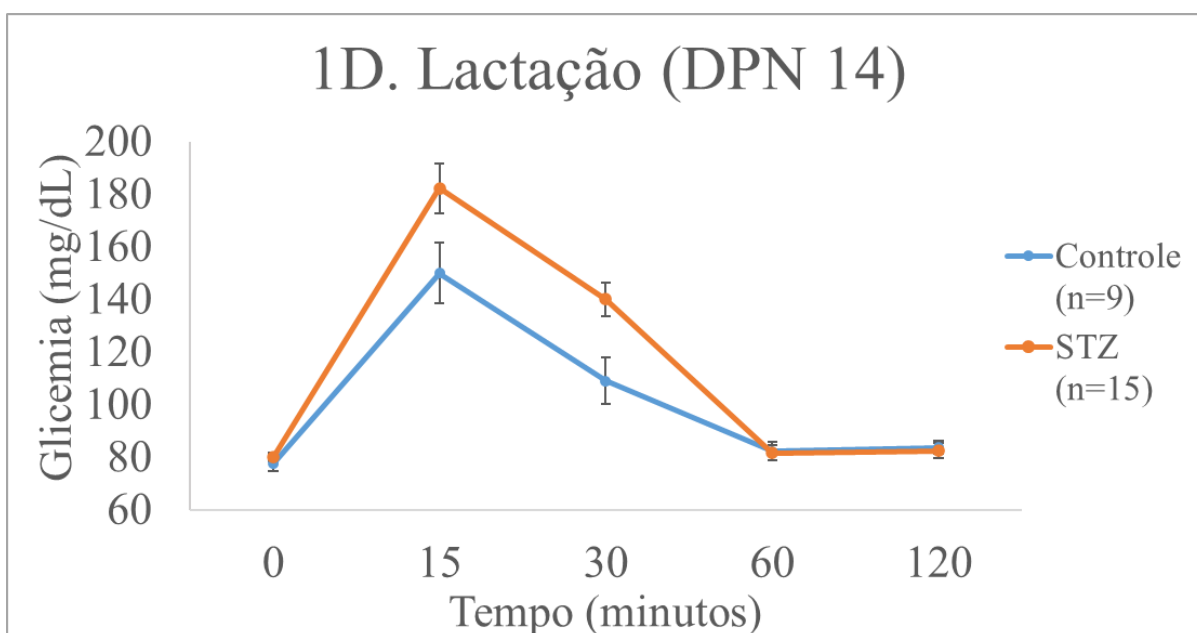
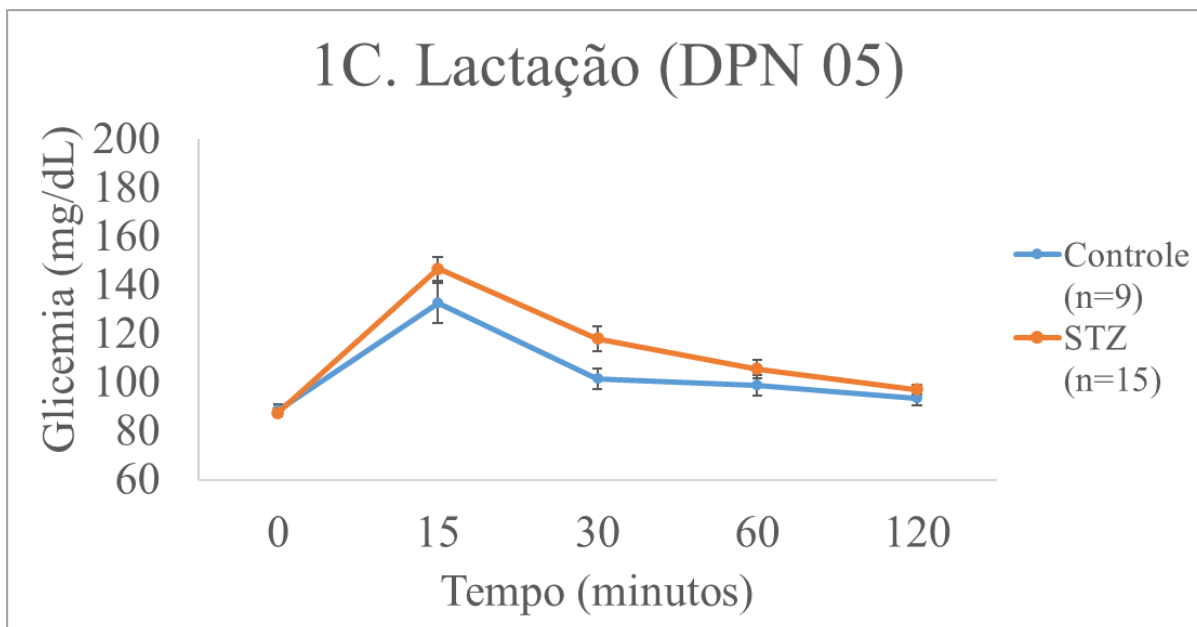
Estes resultados também se refletem nos dados da área sob a curva glicêmica, em que houve efeito de metabolismo ($F(1,88)=19,452$, $p < 0,001$, $\eta=0,182$) e período reprodutivo ($F(3,88)=5,037$, $p=0,003$, $\eta=0,147$), porém, não houve interação entre metabolismo e período reprodutivo ($F(3,88)=0,133$, $p=0,940$, $\eta=0,005$). O teste Post Hoc para o período reprodutivo indicou que a área sob a curva glicêmica do período de prenhez difere do período de pós-lactação ($t=-3,452$, $p=0,005$) e a do período de lactação (DPN 14) difere do período de pós-lactação ($t=-2,911$, $p=0,023$).

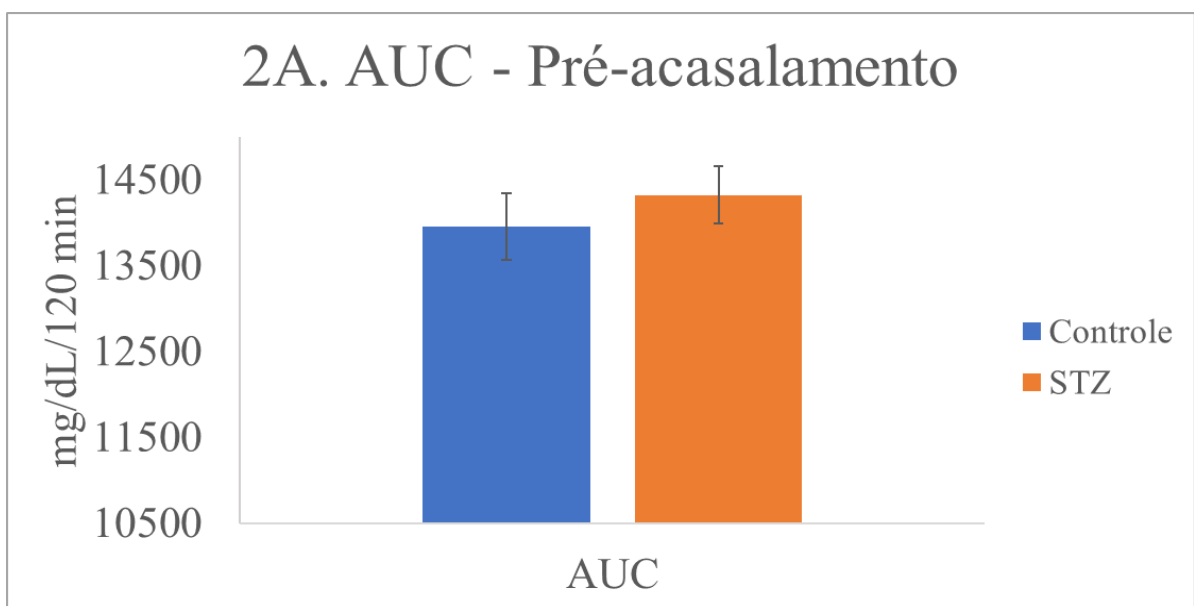
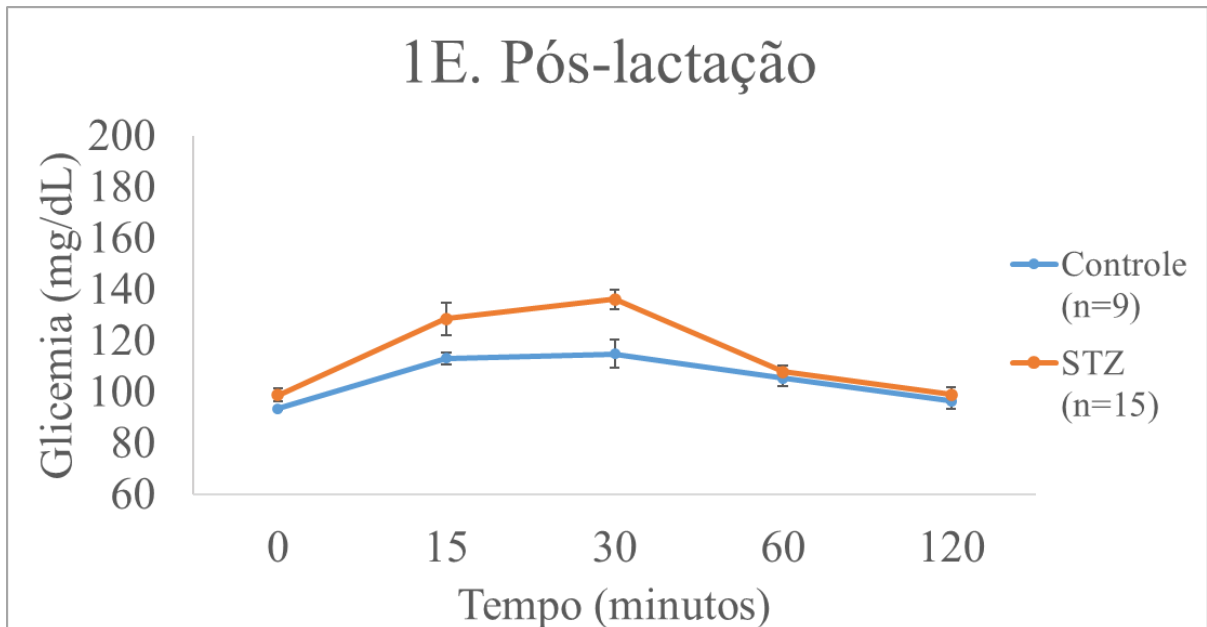
LEGENDAS E FIGURAS

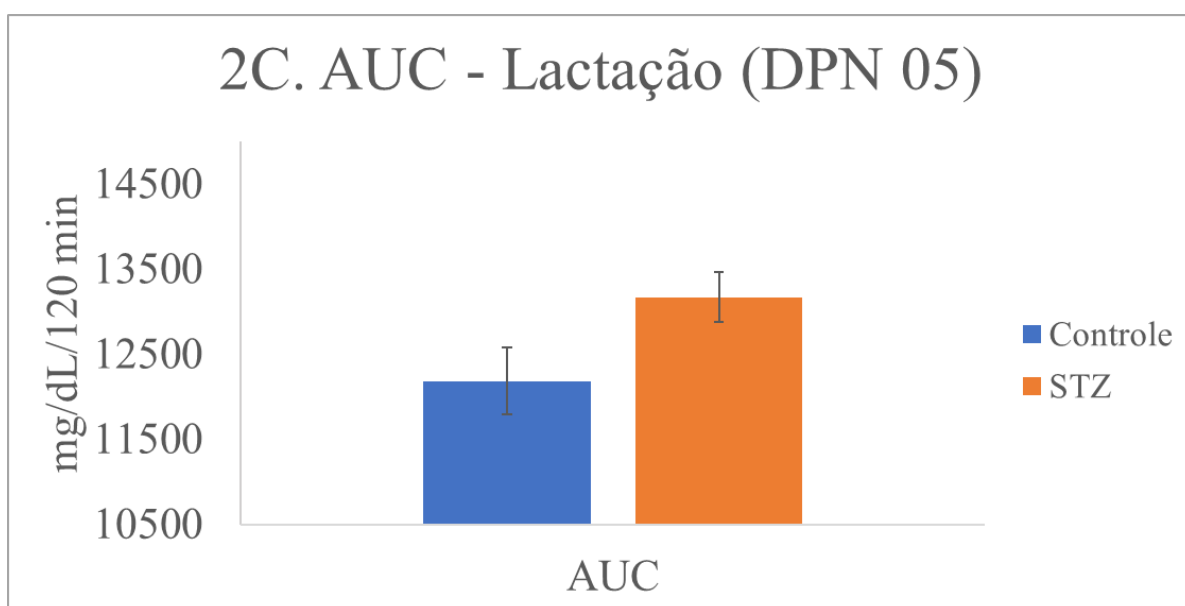
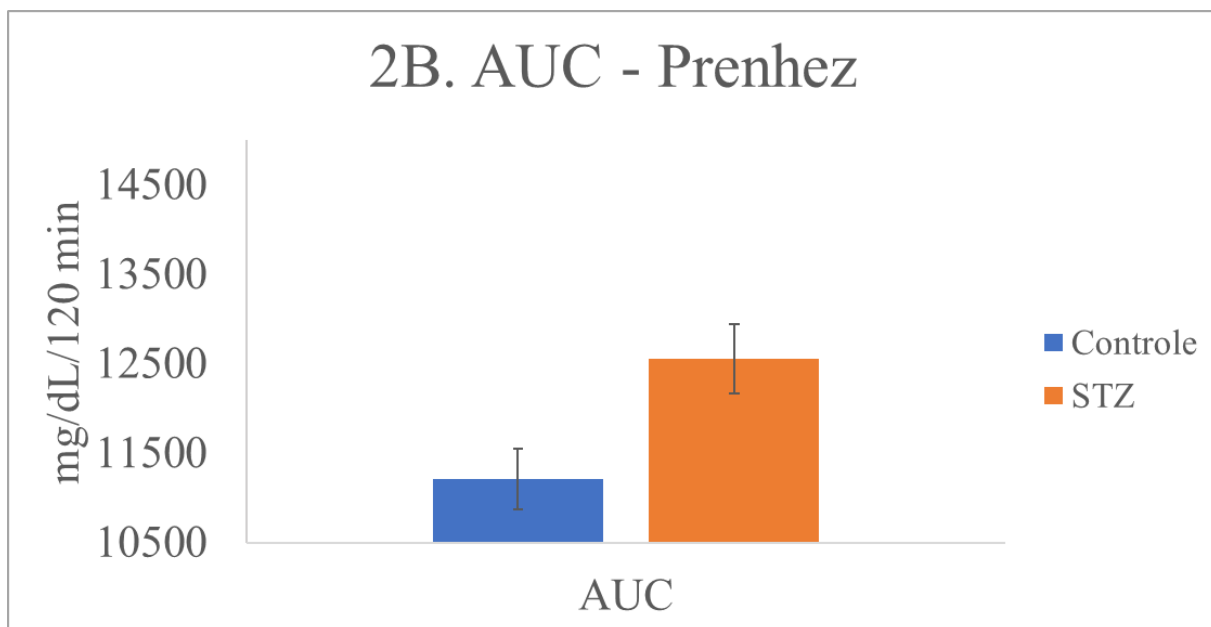
Figuras 1. Curva glicêmica durante o Teste de Tolerância Oral à Glicose durante pré-acasalamento (A), prenhez (B), lactação (DPN 05) (C), lactação (DPN 14) (D) e pós-lactação (E). No teste de ANOVA de medidas repetidas com tempo como medida repetida e metabolismo materno e período como fatores, foram observados efeitos significativos de tempo, houve interação de Tempo X Metabolismo, interação significativa tempo X período. O teste Post Hoc para período demonstrou que a tolerância à glicose na prenhez difere dos períodos posteriores: lactação (DPN 05), lactação (DPN 14), e pós-lactação.

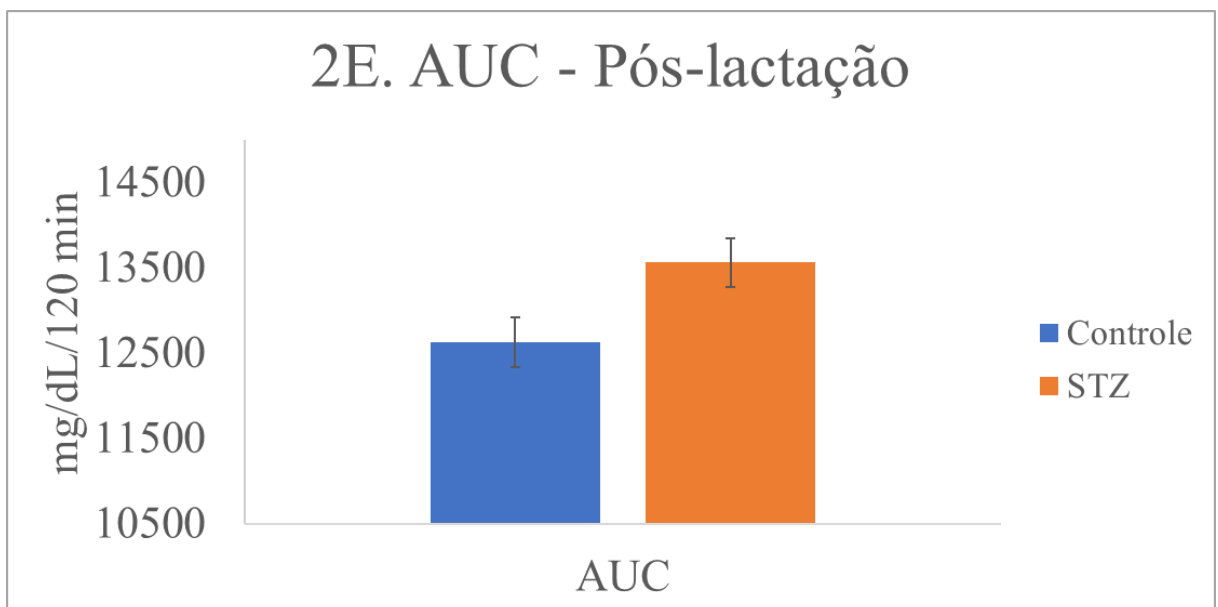
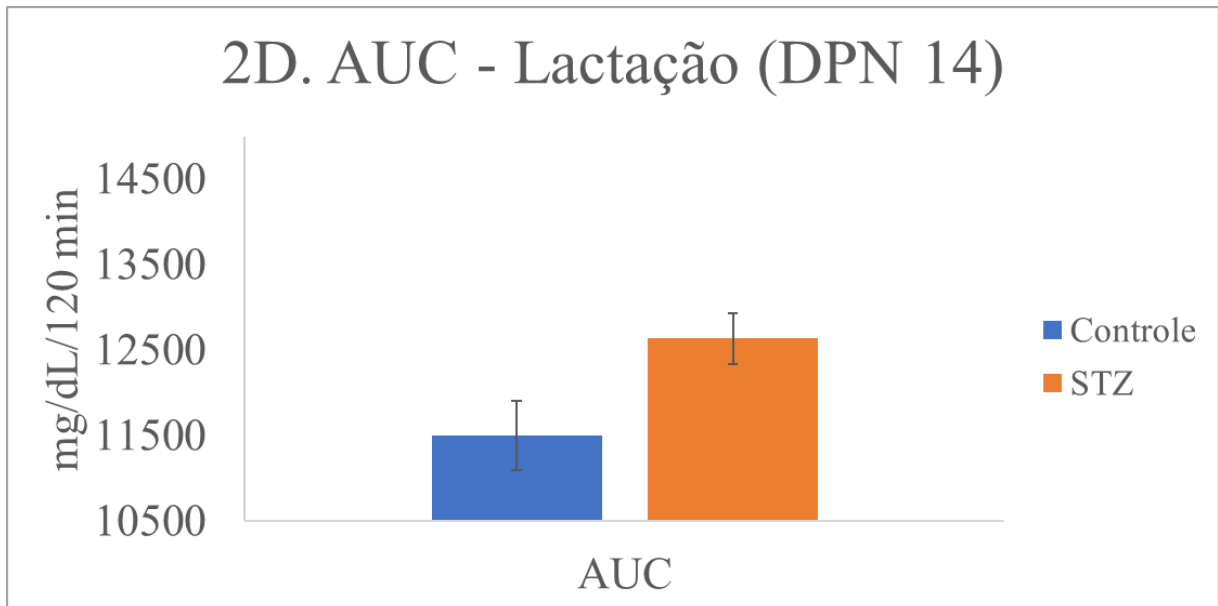
Figuras 2. Área sob a curva glicêmica (AUC) do Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTOG) durante pré-acasalamento (A), prenhez (B), lactação (DPN 05) (C), lactação (DPN 14) (D) e pós-lactação (E). No teste de ANOVA de 2 vias, houve efeito de metabolismo e período reprodutivo. O teste Post Hoc para o período reprodutivo indicou que a área sob a curva glicêmica do período de prenhez difere do período de pós-lactação e a do período de lactação (DPN 14) difere do período de pós-lactação.











DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliamos a tolerância à glicose durante o período de lactação e pós-desmame no modelo experimental de diabetes gestacional. Nossa hipótese foi que a tolerância à glicose materna sofreria modificações no período pós-parto e que a intolerância à glicose na prenhez estabelecida pelo modelo experimental de diabetes gestacional seria

modificada na lactação e após o desmame. Essa hipótese foi parcialmente corroborada e os achados serão discutidos em detalhes a seguir.

Nossos resultados referentes à mudança da tolerância à glicose de acordo com o período reprodutivo corroboram com os relatos na literatura e achados prévios do nosso grupo de pesquisa. Sabe-se que o organismo materno sofre uma série de ajustes metabólicos durante a prenhez para atender a demanda energética do feto em desenvolvimento (PLOWS *et al.*, 2018). Estes ajustes envolvem principalmente mudanças hormonais que promovem as alterações fisiológicas necessárias. A progesterona desempenha seu papel promovendo resistência à insulina (KOHLHEPP *et al.*, 2018). O lactogênio placentário humano (HPL), por sua vez, atua na regulação do metabolismo materno de lipídios e carboidratos, sendo importante para a homeostase energética da mãe e do feto (COSTA, 2016) e também promovendo resistência à insulina (FREEMARK, 2006).

O presente estudo revelou mudanças na tolerância à glicose no período pós-parto com relação ao período de prenhez. A lactação impõe um desafio metabólico importante para a fêmea (WOODSIDE *et al.*, 2012) e o organismo materno passa por uma série de alterações hormonais para dar suporte a essa demanda (ALEX; BHANDARY; MCGUIRE, 2020). No entanto, estudos que investigam o perfil glicêmico de fêmeas no período pós-parto ainda são escassos. Um estudo prévio do nosso grupo de pesquisa, utilizando um modelo experimental de diabetes clínico, mostra variações no perfil glicêmico materno após o desmame dos filhotes com relação ao período de prenhez, corroborando com os achados do presente estudo (KISS; DAMASCENO; WOODSIDE, 2021). Um estudo experimental realizado por Hyatt *et al.* encontrou que as concentrações séricas de glicose foram menores em ratas que amamentaram em comparação com ratas virgens. Além disso, o mesmo estudo experimental investigou os níveis de proteína hepática PPAR δ , uma proteína envolvida no metabolismo da glicose, e encontraram maiores valores de PPAR δ em ratas que amamentaram em comparação com ratas virgens (HYATT *et al.*, 2017). Pandey e colaboradores, por sua vez, realizaram um estudo utilizando ratos *Wistar* e observaram resistência à insulina no final da prenhez e maior sensibilidade à insulina durante o início da lactação (PANDEY *et al.*, 2020). Estes estudos apresentam evidências de que o metabolismo da glicose está alterado no período pós-parto, como também evidenciado no presente estudo.

Com relação aos efeitos observados do modelo experimental de diabetes gestacional empregado, nossos resultados mostraram que, apesar das ratas com diabetes gestacional

apresentarem intolerância à glicose, o comportamento das curvas glicêmicas foi semelhante em ambos os grupos nos diferentes períodos analisados. Diversos estudos da literatura detalham os efeitos do diabetes materno para mães e descendentes (SWEETING *et al.*, 2022), mas os efeitos para o metabolismo materno no pós-parto foram pouco explorados. Estudos mostram que mães que tiveram DMG possuem maior risco de desenvolver diabetes tipo 2 (BELLAMY *et al.*, 2009) e Doenças Cardiovasculares (DALY *et al.*, 2018; CARR *et al.*, 2006) a longo prazo. Há também estudos que relatam que mulheres que tiveram DMG e amamentaram obtiveram melhora da glicemia de jejum (SHUB *et al.*, 2019; GUNDERSON *et al.*, 2012b) e diminuição dos níveis de insulina de 6 a 9 semanas após o parto (GUNDERSON *et al.*, 2012b). Gunderson e colaboradores investigaram o efeito da amamentação durante o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) pós-parto na glicemia em mães com DMG e observaram que ter amamentado durante o teste foi associado com redução moderada da glicose plasmática (GUNDERSON *et al.*, 2012a). Desta forma, estudos mostram que a amamentação desempenha um papel importante na modulação da tolerância à glicose em mulheres que tiveram DMG. No entanto, no presente estudo não foram observados efeitos diferenciados na tolerância à glicose de ratas normoglicêmicas e hiperglicêmicas.

A ausência de uma diferença mais exacerbada das ratas com diabetes gestacional ao longo dos estados reprodutivos avaliados pode estar relacionada ao modelo experimental empregado. O modelo experimental utilizado no presente estudo é o de hiperglicemia moderada, com glicemia entre 120 e 300 mg/dl (KISS *et al.*, 2009). Apesar de ser um modelo empregado com sucesso em nosso grupo de pesquisa e apresentar diferenças em diversos parâmetros, tanto das mães quanto dos descendentes (KISS *et al.*, 2012; OLIVEIRA, 2021; CRUZ, 2021, MARTINS *et al.*, 2021 e 2023) e mimetizar em roedores o quadro hiperglicêmico observado em gestantes com diabetes, pode não ter sido suficiente para que pudessem ser observadas diferenças entre os grupos experimentais. Sabe-se que diferentes intensidades glicêmicas maternas podem levar a diferentes consequências para as mães e seus descendentes (FADL; GÄRDEFORS; HJERTBERG; NORD *et al.*, 2015; HILLIER; PEDULA; SCHMIDT; MULLEN *et al.*, 2007). Sendo assim, a intensidade glicêmica do diabetes moderado, apesar de comprovadamente alterar parâmetros comportamentais, hormonais e metabólicos de mães e descendentes, pode ter sido insuficiente para acarretar em mudanças mais exacerbadas no presente estudo.

CONCLUSÃO

Como esperado, ocorreu uma mudança no perfil glicêmico dos animais no período pós-parto quando comparado ao período de prenhez. No entanto, apesar das ratas com diabetes gestacional apresentarem intolerância à glicose, o comportamento das curvas glicêmicas foi semelhante em ambos os grupos nos diferentes períodos.

Considerando que o controle glicêmico é um importante fator no tratamento do DMG, e a alta recorrência de DMG em gestações subsequentes, além do risco materno de desenvolver diabetes tipo 2 mais tardiamente, estudos relacionados ao metabolismo energético durante a gravidez e lactação são altamente relevantes, pois ajudam a entender de que forma estas mudanças fisiopatológicas irão impactar no metabolismo da mãe e seus descendentes, reforçando a relevância do presente estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. **Diabetes care**, v. 44, n. Suppl 1, p. S15–S33, 1 jan. 2021.

ALEX, A.; BHANDARY, E.; MCGUIRE, K. P. Anatomy and Physiology of the Breast during Pregnancy and Lactation. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 1252, p. 3–7, 2020.

BAEYENS, L. et al. **β -Cell adaptation in pregnancy. Diabetes, Obesity and Metabolism** Blackwell Publishing Ltd, , 1 set. 2016.

BELLAMY, L. et al. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Lancet (London, England)**, v. 373, n. 9677, p. 1773–1779, 2009.

BILLIONNET, C. et al. Gestational diabetes and adverse perinatal outcomes from 716,152 births in France in 2012. **Diabetologia**, v. 60, n. 4, p. 636–644, 1 abr. 2017.

CARR, D. B. et al. Gestational diabetes mellitus increases the risk of cardiovascular disease in women with a family history of type 2 diabetes. **Diabetes care**, v. 29, n. 9, p. 2078–2083, 2006.

COSTA, M. A. The endocrine function of human placenta: an overview. **Reproductive biomedicine online**, v. 32, n. 1, p. 14–43, 1 jan. 2016.

CROWTHER, C. A. et al. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. **The New England journal of medicine**, v. 352, n. 24, p. 2477–2486, 16 jun. 2005.

CRUZ, A. G. **Efeitos da infusão central crônica de leptina em parâmetros reprodutivos de descendentes machos de ratas com hiperglicemia moderada e nutrição inadequada.** Orientador: KISS, A. C. I. 2021. (Master's Degree in Sciences - Physiology) -, University of Sao Paulo.

DALY, B. et al. Increased risk of ischemic heart disease, hypertension, and type 2 diabetes in women with previous gestational diabetes mellitus, a target group in general practice for preventive interventions: A population-based cohort study. **PLoS medicine**, v. 15, n. 1, 1 jan. 2018.

DAMASCENO, D. C. et al. Mild diabetes models and their maternal-fetal repercussions. **Journal of diabetes research**, v. 2013, 2013.

DI CIANNI, G. et al. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 19, n. 4, p. 259–270, jul. 2003.

Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes care**, v. 37 Suppl 1, n. SUPPL.1, jan. 2014.

FADL, H. E. et al. Randomized controlled study in pregnancy on treatment of marked hyperglycemia that is short of overt diabetes. **Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica**, v. 94, n. 11, p. 1181–1187, 1 nov. 2015.

FREEMARK, M. Regulation of maternal metabolism by pituitary and placental hormones: roles in fetal development and metabolic programming. **Hormone research**, v. 65 Suppl 3, n. SUPPL. 3, p. 41–49, abr. 2006.

GUNDERSON, E. P. et al. Influence of breastfeeding during the postpartum oral glucose tolerance test on plasma glucose and insulin. **Obstetrics and gynecology**, v. 120, n. 1, p. 136–143, 2012a.

GUNDERSON, E. P. et al. Lactation intensity and postpartum maternal glucose tolerance and insulin resistance in women with recent GDM: the SWIFT cohort. **Diabetes care**, v. 35, n. 1, p. 50–56, jan. 2012b.

HIERSCH, L.; YOGEV, Y. Impact of gestational hyperglycemia on maternal and child health. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 17, n. 3, p. 255–260, 2014.

HILL, D. J. Placental control of metabolic adaptations in the mother for an optimal pregnancy outcome. What goes wrong in gestational diabetes? **Placenta**, v. 69, p. 162–168, 1 set. 2018.

HILLIER, T. A. et al. Childhood obesity and metabolic imprinting: the ongoing effects of maternal hyperglycemia. **Diabetes care**, v. 30, n. 9, p. 2287–2292, set. 2007.

HYATT, H. W. et al. Lactation has persistent effects on a mother's metabolism and mitochondrial function. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, 1 dez. 2017.

IDF Diabetes Atlas 10th edition. . [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.diabetesatlas.org>.

JOHNS, E. C. et al. Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 29, n. 11, p. 743–754, 1 nov. 2018.

KISS, A. C. et al. Animal models for clinical and gestational diabetes: maternal and fetal outcomes. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 1, n. 1, dez. 2009.

KISS, A. C. I. et al. Impact of maternal mild hyperglycemia on maternal care and offspring development and behavior of Wistar rats. **Physiology & behavior**, v. 107, n. 3, p. 292–300, 2012.

KISS, A. C. I. et al. Neonatally induced mild diabetes: influence on development, behavior and reproductive function of female Wistar rats. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 5, n. 1, 16 out. 2013.

KISS, A. C. I.; DAMASCENO, D. C.; WOODSIDE, B. C. Effects Of STZ Neonatal Administration on Maternal Glucose Tolerance in Different Reproductive States. **Metabolism**, v. 116, p. 154627, 1 mar. 2021.

KOHLHEPP, L. M. et al. [Physiological changes during pregnancy]. **Der Anaesthesist**, v. 67, n. 5, p. 383–396, 1 maio 2018.

MARTINS, M. G. et al. Effects of snack intake during pregnancy and lactation on reproductive outcome in mild hyperglycemic rats. **Physiology & behavior**, v. 240, 15 out. 2021.

MARTINS, M. G. et al. Maternal glucose intolerance during pregnancy affects offspring POMC expression and results in adult metabolic alterations in a sex-dependent manner. **Frontiers in Endocrinology**, v. 14, p. 1189207, 15 jun. 2023.

OLIVEIRA, G. P. de. **Efeitos da leptina na ingestão alimentar de descendentes de ratas com alterações metabólicas e nutricionais**. São Paulo, 2021. 65 p. Dissertação (Mestrado), Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Ciências (Fisiologia Geral).

OH, W.; GELARDI, N. L.; CHA, C. J. Maternal hyperglycemia in pregnant rats: its effect on growth and carbohydrate metabolism in the offspring. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 37, n. 12, p. 1146–1151, 1988.

PANDEY, A. et al. Under-carboxylated osteocalcin regulates glucose and lipid metabolism during pregnancy and lactation in rats. **Journal of endocrinological investigation**, v. 43, n. 8, p. 1081–1095, 1 ago. 2020.

PLOWS, J. F. et al. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 11, 1 nov. 2018.

SCHWARTZ, N.; NACHUM, Z.; GREEN, M. S. The prevalence of gestational diabetes mellitus recurrence--effect of ethnicity and parity: a metaanalysis. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 213, n. 3, p. 310–317, 1 set. 2015.

SHOSTROM, D. C. V. et al. History of Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Cardiovascular Disease and Cardiovascular Risk Factors in US Women. **Frontiers in endocrinology**, v. 8, n. JUN, 26 jun. 2017.

SHUB, A. et al. The effect of breastfeeding on postpartum glucose tolerance and lipid profiles in women with gestational diabetes mellitus. **International breastfeeding journal**, v. 14, n. 1, 4 nov. 2019.

SPAIGHT, C. et al. Gestational Diabetes Mellitus. **Endocrine development**, v. 31, p. 163–178, 2016.

SWEETING, A. et al. A Clinical Update on Gestational Diabetes Mellitus. **Endocrine reviews**, v. 43, n. 5, p. 763–793, 1 out. 2022.

TAI, M. M. A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. **Diabetes care**, v. 17, n. 2, p. 152–154, 1994.

WOODSIDE, B. et al. Many mouths to feed: the control of food intake during lactation. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 33, n. 3, p. 301–314, ago. 2012.