

EFEITOS DA RESTRIÇÃO DE PROTEÍNAS NOS FOLÍCULOS OVARIANOS DE CAMUNDONGOS FÊMEAS

ANA JULIA NUNES DA SILVA¹; GABRIEL BARRETO VEIGA²; BIANCA MACHADO DE ÁVILA³; GIULIA DA CUNHA PEREIRA⁴; DRIELE NESKE GARCIA⁵; AUGUSTO SCHNEIDER⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – annajulianunes153@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – bianca_avila@ymail.com

³Universidade Federal de Pelotas - giuliacpereira@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - drika_neske@yahoo.com.br

⁵Universidade Federal de Pelotas - gabrielbveiga@icloud.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – augusto.schneider@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento ovariano é um processo fisiológico particular ao ciclo de vida das fêmeas, caracterizado pela diminuição relativa da função ovariana e da qualidade dos oócitos à medida que o tempo avança TILLY & SINCLAIR (2013). Este fenômeno é central na estabilização da fertilidade feminina e apresenta algumas divergências clínicas significativas, como a irregularidade menstrual, a infertilidade e a mudança para a menopausa MAUVAIS-JARVIS (2015). O envelhecimento ovariano é uma interação complexa de fatores genéticos, endócrinos e ambientais, sendo a nutrição um componente relevante nesse contexto.

A restrição de proteínas, com uma abordagem dietética que envolve a redução controlada da ingestão de proteínas, tem surgido como uma área de pesquisa promissora no estudo do envelhecimento ovariano em camundongos fêmeas. A restrição de proteínas baseia-se na hipótese de que a modulação da ingestão de aminoácidos essenciais pode ter um impacto positivo ou negativo na função ovariana e na qualidade dos oócitos. Para compreender de que maneira a restrição de proteínas afeta o envelhecimento ovariano em camundongos fêmeas, é importante explorar os mecanismos moleculares subjacentes que ligam a nutrição à função ovariana e à saúde reprodutiva.

Nesse contexto, evidências indicam que a restrição de proteínas pode influenciar vias metabólicas intrínsecas às células ovarianas, tais como a via mTOR (alvo da rapamicina em mamíferos, do inglês mammalian target of rapamycin) uma proteína que desempenha um papel central na regulação do crescimento, proliferação e sobrevivência celular SZWED et al. (2013). Além disso, a restrição de proteínas pode modular a expressão de genes relacionados à síntese de fatores de crescimento e à regulação do ciclo celular SELESNEIME et al. (2008.), fatores fundamentais na determinação da saúde e vitalidade dos oócitos.

Baseado nisso, o objetivo deste projeto foi observar os efeitos da restrição de proteínas e camundongos fêmeas no número de folículos primordiais.

2. METODOLOGIA

Foram usados, 35 camundongos fêmeas da linhagem C57/BL6 com 3 meses de idade mantidos sob condições controladas de temperatura e luz ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo de 12 horas de luz/12 horas de escuro) com água ad libitum. Os camundongos foram randomizados em 2 grupos: controle (CTL, 22% de proteína na dieta = 8) e restrição proteica (PR; 7% de proteína na dieta = 9). A dieta oferecida aos camundongos CR foi determinada pelo equivalente diário à média semanal dos camundongos do grupo controle, com redução de 10% na primeira semana, 20% na segunda semana e 30% a contar da terceira semana de estudo em diante. Ao final do experimento, o ciclo estral foi sincronizado pela injeção de eCG (2,5 U) e hCG (5 U), 48 e 12 horas antes da eutanásia, respectivamente. Logo depois da eutanásia, os camundongos foram dissecados e os ovários coletados e armazenados, um ovário congelado a -80°C e o outro em solução de formaldeído a 10% para análise histológica.

Para a avaliação histológica, amostras de ovários foram retiradas e fixadas em formaldeído a 4%. Em seguida, os ovários incluídos em Paraplast Plus foram cortados sequencialmente em um micrótomo automático da Leica, com espessura de 5 μm , e a cada 6 cortes, um foi removido e colocado em lâminas para histologia padrão. Após secagem das lâminas a 55°C , foram coradas com hematoxilina-eosina, montadas com lamínulas e resina sintética. Imagens das seções ovarianas foram avaliadas em um microscópio com aumento de 10 e 40x. A classificação dos folículos ovarianos foi realizada com base na presença de células granulosas e complexos cumulus-oophorus, sendo classificados como primordiais, primários, secundários ou terciários. Por fim, o número total de folículos foi dividido pelo número de seções avaliadas para obter a densidade de folículos.

A análise estatística foi realizada no software Graphpad Prism 5.0 através do teste de t. Foi considerado significativo valores de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observamos que a restrição de proteínas promoveu aumento dos folículos primordiais e diminuição dos secundários comparado ao grupo controle (Figura 1).

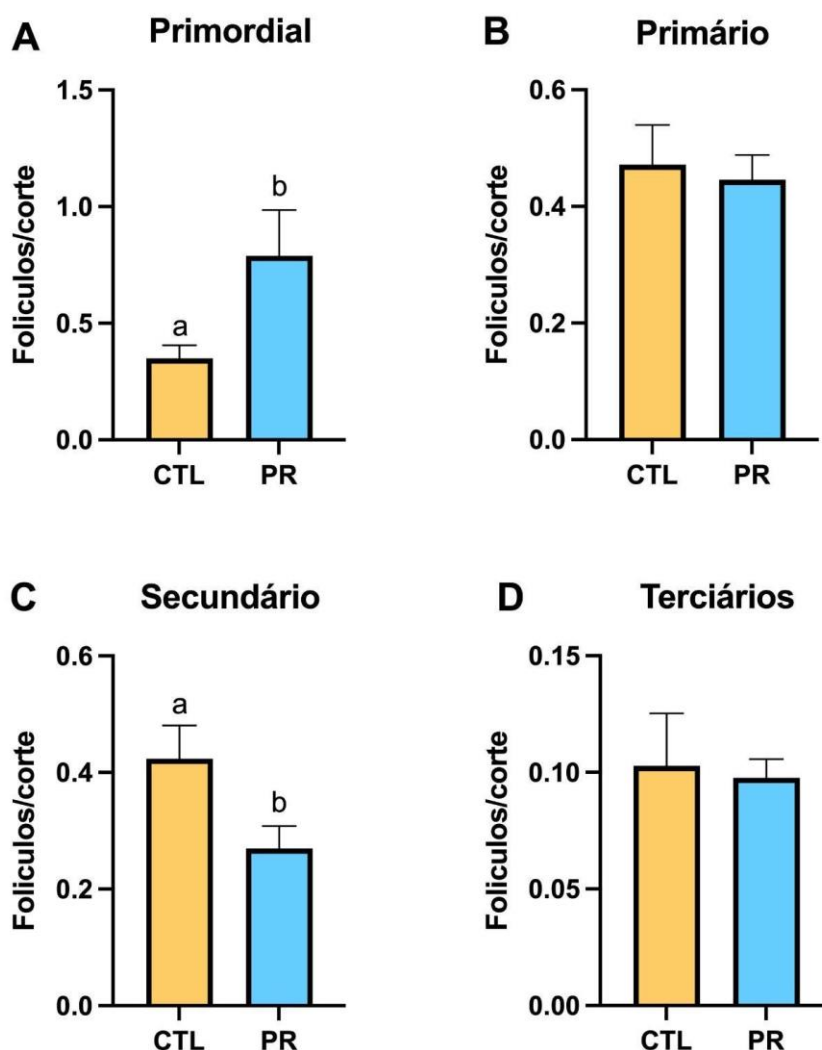


Figura 1- Número de folículos primordiais, primários, secundários e terciários em camundongos recebendo dieta controle (CTL) ou com restrição de proteínas (PR). Fonte: Augusto Schneider (2023)

De acordo com ZHUO et al (2019), os folículos primordiais são inibidos por conta da restrição proteica e são ativados por uma dieta rica em proteínas. Conforme os resultados apresentados constatou-se que há aumento no número de folículos primordiais com uma dieta pobre em proteína. Como há baixa ativação dos folículos primordiais os mesmos não progridem ao estágio secundário, quando observamos que há uma diminuição de folículos secundários no grupo restrição de proteínas.

O aumento do número de folículos primordiais é benéfico pois pode ocasionar a menopausa tardia, e preservando mais os folículos com o decorrer dos tempos e aumentando a fertilidade em períodos críticos.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão observamos que com uma dieta pobre em proteína, há baixa ativação dos folículos primordiais, quantidade de proteína influencia na incidência do

número de folículos como apresentado nas figuras. Podendo levar a menopausa tardia no caso de mulheres.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Tilly, J. L., & Sinclair, D. A. (2013). **Germline energetics, aging, and female infertility**. *Cell Metabolism*, 17(6), 838-850.

Mauvais-Jarvis, F. (2015). **Nutritional approaches to preventing and treating polycystic ovary syndrome**. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 26(5), 243-249.

Selesniemi, K., Lee, H. J., & Tilly, J. L. (2008). **Moderate caloric restriction initiated in rodents during adulthood sustains function of the female reproductive axis into advanced chronological age**. *Aging Cell*, 7(5), 622-629.

Sharma, S., & Majumdar, S. S. (2017). **Nutrition, oxidative stress, and apoptosis. In Molecular Nutrition: Regulation of Mitochondrial Function**. (pp. 281-294). CRC Press.

Wu, L. L., Dunning, K. R., Yang, X., Russell, D. L., & Lane, M. (2010). **Norman RJ, Robker RL. High-fat diet causes lipotoxicity responses in cumulus-oocyte complexes and decreased fertilization rates**. *Endocrinology*, 151(11), 5438-5445.

Szwed, Ângela; Ribeiro, Eugênio; JACINTO, Estela. **Regulação e funções metabólicas do mTORC1 e mTORC2. Revisões fisiológicas**, v. 101, n. 3, p. 1371-1426, 2021.