

## IMPACTO DE DIETAS ALTAS EM PROTEÍNAS E BCAAs ASSOCIADAS AO EXERCÍCIO FÍSICO SOB A QUALIDADE E QUANTIDADE OOCITÁRIA DE CAMUNDONGOS FÊMEAS

LARISSA S. MAGALHÃES; GIULIA DA CUNHA PEREIRA; TARCÍSIO HENRIQUE L. PEREIRA; ÂNDREA G. A. NOGUEIRA; BIANKA M. ZANINI E AUGUSTO SCHNEIDER

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – larissasama@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – giuliacpereira@gmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – tarcisio.henrique95@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – deianogueira1616@gmail.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – bianka\_zanini@hotmail.com*

<sup>6</sup>*Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – larissasama@hotmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

A reserva ovariana contém um número finito de oócitos, esses oócitos uma vez ativados não retornam ao seu estágio primordial (BROEKMAN; SOULES; FAUSER, 2009). A obesidade está associada ao aumento dos aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs) circulantes, que estão diretamente associados à resistência insulínica. Relata-se que dietas restritas em BCAAs aumentam a longevidade de camundongos, mesmo em dietas isocalóricas, além disso, sabe-se que dietas ricas em proteínas aumentam a ativação folicular (ZHOU et al., 2019). O exercício de resistência resulta em diminuição do peso corporal e massa gorda em camundongos alimentados com uma dieta rica em proteínas (TRAUTMAN et al., 2023). No entanto, não se sabe como o exercício neutralizaria os efeitos dessas dietas não saudáveis em relação ao envelhecimento ovariano e a saúde reprodutiva.

A rapamicina é um medicamento imunossupressor que inibe a via alvo mecanicista da rapamicina quinase (mTOR), mais especificamente o complexo mTORC1, que é sensível à rapamicina (BLAGOSKLONNY, 2010). Sugere-se que a mTOR esteja envolvida na ativação e recrutamento do folículo primordial (SCHNEIDER et al., 2020). Dessa forma, o objetivo do presente estudo é avaliar a qualidade e quantidade oocitárias de camundongos que receberam uma dieta rica em BCAAs e proteínas e sua relação com exercício físico e administração de rapamicina.

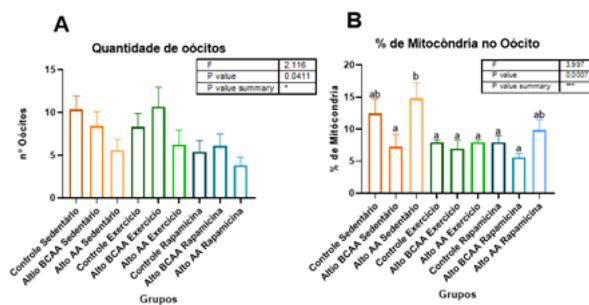
### 2. METODOLOGIA

O projeto foi aprovado no comitê de ética em experimentação animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), sob o número 035203/2023-70. Camundongos fêmeas C57BL/6 (n=108) recebidos aos três meses, foram mantidos sob condições controladas de temperatura, luz e umidade ( $22 \pm 2$  °C, ciclos de 12h claro/escuro). As intervenções dietéticas e de exercícios começaram aos 6 meses de idade, tiveram duração de 4 meses e consistiram em nove grupos da seguinte forma (n=10-14/grupo): camundongos controle sedentários; camundongos recebendo alta proteína sedentários; recebendo dieta rica em BCAA sedentários; controle com exercício resistido; alta proteína com exercício resistido; dieta rica em BCAA com exercício resistido; controle recebendo rapamicina (4mg intraperitoneal (i.p.)); alta proteína e rapamicina (4mg i.p.); dieta rica em BCAAs e rapamicina (4mg i.p.). A dieta rica em proteínas teve 36% de energia proveniente de proteínas e a dieta rica em BCAA o dobro do conteúdo de BCAA (TRAUTMAN et al., 2023). Para o exercício resistido, os camundongos foram submetidos a subir escada de 1 metro, 3 dias por semana, 10 vezes com cargas adicionadas à base da cauda (LIU et al., 2020). Para a coleta de oócitos, foi sincronizado o ciclo estral das fêmeas (i.p. de eCG 5 UI e 48hs depois Hcg -5 UI) (ISOLA et al., 2022). Após eutanásia, os ovidutos foram retirados, separados e lavados com meio de cultivo para coleta de oócitos e avaliados sob estereomicroscópio para quantificação (MIAO et al., 2022), além disso realizou-se análise mitocondrial por meio de análise confocal e o número de pixels nas imagens foi calculado usando o software ImageJ (National Institutes of Health—EUA). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. A análise estatística foi realizada usando o software GraphPad Prism 8.0, utilizou-se ANOVA de uma via, seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey, e p <0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Figura 1** apresenta os resultados de quantidade e qualidade oocitária por meio de análise mitocondrial. Observamos no painel A, em relação à quantidade de oócitos, A ANOVA de uma via apresentou diferença estatística entre os grupos (valor de p=0,0411), contudo o teste de múltiplas comparações não mostrou diferença. Porém, no painel B, analisando a porcentagem de

mitocôndrias nos oócitos os grupos alto BCAA sedentário, controle exercício, alto BCAA exercício, alto AA exercício, controle e alto BCAA rapamicina foram diferentes do grupo alto AA sedentário ( $p=0,0007$ ). Nota-se que camundongos que receberam rapamicina tiveram menos oócitos, indicando uma tendência à preservação da reserva ovariana, corroborando com SATO, KAWAMURA (2020) demonstrou que a rapamicina possa ser um poupadão de reserva. Em contrapartida, ZHUO et al., (2019) confirmou que dietas ricas em proteínas aumentam a ativação folicular. Em relação ao aumento de mitocôndrias no grupo que recebeu alta proteína, Wang et al., (2022) afirmam que alterações mitocondriais no oócito culminam no aumento do estresse oxidativo, podendo serem transmitidas à prole gerando resistência insulínica, dados que corroboram que o aumento de proteínas na dieta possa ser prejudicial à reserva ovariana (ZHUO et al., 2019).



**Figura 1.** Quantidade de oócitos (A) e porcentagem (%) de Mitocôndria no Oócito (B). Letras diferentes significam diferença estatística,  $p<0,05$  foi considerado significativamente estatístico.

#### 4. CONCLUSÕES

A quantidade de oócitos não foi alterada nos grupos estudados, mas houve uma tendência a menor quantidade nos grupos que receberam rapamicina, além disso, observamos um aumento mitocondrial nos ovários que receberam uma dieta rica em proteínas, o que pode indicar que dietas altas em proteínas possam aumentar a inflamação e prejudicar a reserva ovariana.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLAGOSKLONNY, M. V. Calorie restriction: decelerating mTOR-driven aging from cells to organisms (including humans). *Cell Cycle*, v. 9, p. 683–688, 2010.

BROEKMAN, F. J.; SOUDIJN, M.; VELDHUIS-VAN ESSEN, C. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocrine Reviews*, v. 30, n. 5, p. 465-493, ago. 2009.

ISOLA, J. V. V., et al. Mild calorie restriction, but not 17alpha-estradiol, extends ovarian reserve and fertility in female mice. *Experimental Gerontology*, v. 159, p. 111669, 2022.

LIU, Y., et al. Short-term resistance exercise inhibits neuroinflammation and attenuates neuropathological changes in 3xTg Alzheimer's disease mice. *Journal of Neuroinflammation*, v. 17, p. 1-16, 2020.

MIAO, Y.; CHEN, J.; GAO, Q.; XIONG, B. Generation and assessment of high-quality mouse oocytes and embryos following nicotinamide mononucleotide administration. *STAR Protocols*, v. 2, n. 1, p. 100298, 2021. DOI: 10.1016/j.xpro.2021.100298.

SATO, KAWAMURA. Rapamycin treatment maintains developmental potential of oocytes in mice and follicle reserve in human cortical fragments grafted into immune-deficient mice. *Mol Cell Endocrinol.* 2020 Mar 15;504:110694. doi: 10.1016/j.mce.2019.110694.

SCHNEIDER, A., et al. The interconnections between somatic and ovarian aging in murine models. *Journal of Gerontology: Biological Sciences and Medical Sciences*, 2020.

TRAUTMAN, M. E., et al. Resistance exercise protects mice from protein-induced fat accretion. *eLife*, v. 12, RP91007, 2023. DOI: 10.7554/eLife.91007.

WANG, L., et al. Administration of nicotinamide mononucleotide improves oocyte quality of obese mice. *Cell Proliferation*, [s.l.], v. 55, n. 11, p. e13303, nov. 2022. DOI: 10.1111/cpr.13303.

ZHUO, Y., et al. Fibroblast growth factor 21 coordinates adiponectin to mediate the beneficial effects of low-protein diet on primordial follicle reserve. *EBioMedicine*, v. 41, p. 623-635, mar. 2019. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.02.020.