

DIETAS OCIDENTAIS PODEM INDUZIR AUMENTO DA CICLICIDADE INDEPENDENTE DO PESO EM MODELO CAMUNDONGO

**GIULIA DA CUNHA PEREIRA¹; JESSICA DAMÉ HENSE²; JULIANE BRISTOT
PROSCZEK³; CÉSAR AUGUSTO PINZÓN OSÓRIO⁴; CAMILA LAPISCHIES
MOREIRA⁴; AUGUSTO SCHNEIDER⁵**

¹*Universidade Federal de Pelotas – giuliacpereira@gmail.com*

² *Universidade Federal de Pelotas – jeeh.hense@hotmail.com*

³ *Universidade Federal de Pelotas – julianeprosczek@gmail.com*

⁴ *Universidade Federal de Pelotas – capinzono@unal.edu.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – camila.lapischies@ufpel.edu.br*

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

1. INTRODUÇÃO

O aumento da prevalência da obesidade nas últimas décadas tem sido acompanhado por uma preocupação crescente de seus impactos negativos sobre a saúde reprodutiva, particularmente em relação às funções metabólicas e hormonais associadas à fertilidade (ZHENG et al., 2024). Estudos recentes indicam que dietas ricas em gordura comprometem a fertilidade e a função ovariana, mesmo sem o desenvolvimento de obesidade, reduzindo a reserva ovariana (SKAZNIK-WIKIEL et al., 2016) e alterando o ciclo estral (LENERT et al., 2021), fundamentais para a reprodução. Além disso, tais dietas aumentam os níveis de inflamação local e sistêmica (SKAZNIK-WIKIEL et al., 2016), o aumento na inflamação e as alterações hormonais geradas por essas dietas podem antecipar a menopausa e reduzir a fertilidade (LENERT et al., 2021; SKAZNIK-WIKIEL et al., 2016). Esses efeitos adversos na fertilidade podem incluir tanto a diminuição do número de folículos primordiais quanto a disfunção ovariana em longo prazo, resultando em subfertilidade ou infertilidade (SKAZNIK-WIKIEL et al., 2016).

Embora seja reconhecido que a obesidade, induzida por dietas ricas em gordura, afeta diretamente a função reprodutiva (ZHENG et al., 2024), dados mostram que dietas ricas em gordura podem levar a uma redução significativa nos folículos primordiais, comprometendo a fertilidade, apresentando níveis mais altos de citocinas pró-inflamatórias e aumentando a infiltração de macrófagos ovarianos, independentemente da obesidade. (SKAZNIK-WIKIEL et al., 2016). Este cenário enfatiza a necessidade de entender os mecanismos pelos quais tanto a obesidade quanto a dieta, isoladamente, podem prejudicar a fertilidade. Enquanto o papel da obesidade na infertilidade é amplamente estudado, o impacto específico das dietas ricas em gordura saturada e carboidratos de alto índice glicêmico, sem a presença de obesidade, sobre a reserva ovariana e o ciclo reprodutivo permanece menos compreendido. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar como a obesidade e a dieta, independentemente, afetam a regulação do ciclo estral.

2. METODOLOGIA

Todas as dietas foram preparadas no próprio laboratório. A dieta padrão (64,3% de carboidratos, 20,3% de proteínas, 15,5% de gordura) foi utilizada como controle (CTL). A dieta CTL foi modificada na composição de gorduras e carboidratos, acrescentada de gordura saturada e açúcar como substituição de parte dos macronutrientes, para representar a dieta de padrão ocidental isocalórica

(IWD; 64,3% de carboidratos, 20,3% de proteínas, 15,5% de gordura), dieta ocidental regular (SWD; 38,2% de carboidrato, 16,6% de proteínas, 45,3% de gorduras), já a dieta rica em gorduras (HF; 22,3% de carboidratos, 14,4% de proteínas e 63,4% de gorduras) foi utilizada como controle positivo para ganho de peso e impacto na fertilidade.

Todos os procedimentos com animais foram revisados e aprovados pelo Comitê de Ética e Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas. Quarenta e oito ($n=48$) camundongos C57BL/6J fêmeas com 3 meses de idade foram alojadas em caixas com 3 a $22 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ em um ciclo de claro-escuro de 12 horas e possuíam acesso *ad libitum* a comida e água ao longo do período experimental. O tratamento foi realizado por 16 semanas.

Aos 7 meses de idade, foram coletados esfregaços vaginais de cada animal por lavagem com solução salina a 0,9% entre 09:00h e 11:00h. O esfregaço foi realizado e corado em uma lâmina de microscópio, as lâminas secas foram coradas com o Kit Panótico Rápido (Laborclin). O estágio do ciclo estral foi determinado por exame microscópico (CORA et al., 2015). A citologia vaginal foi examinada por 12 dias consecutivos.

As fases do ciclo estral foram classificadas pela citologia descrita em CORA et al (2015). O Proestro (A) foi classificado pelo aparecimento de células epiteliais primariamente nucleadas e algumas células epiteliais anucleadas com muito pouco ou nenhum neutrófilo presente. As células epiteliais nucleadas são arredondadas, com um núcleo escuro e citoplasma profundamente corado. O estro (B) foi classificado como a predominância de células epiteliais anucleadas, às vezes aparecendo em grandes aglomerados. O metaestro (C) foi classificado pelo aparecimento de células epiteliais nucleadas e anucleadas, bem como pela presença de neutrófilos. O diestro (D) foi classificado pela predominância de neutrófilos, com poucas ou nenhuma célula epitelial nucleada e anucleada presente e uma baixa densidade celular.

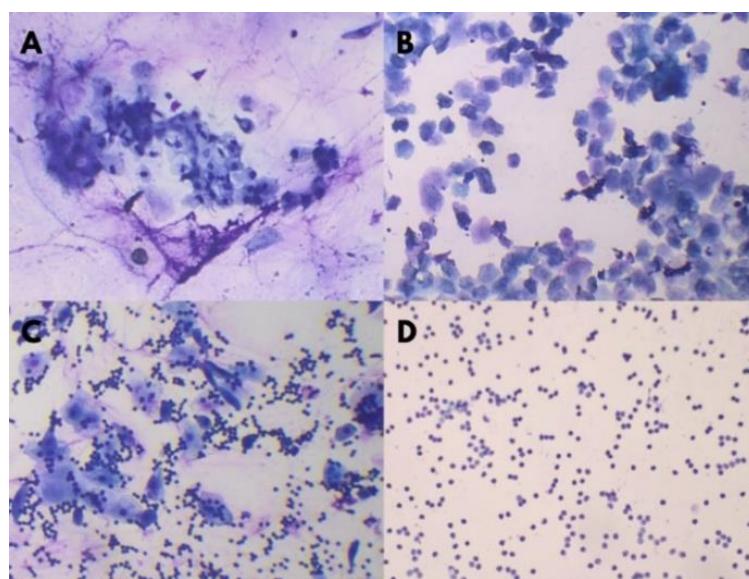


Fig. 1 Classificação do ciclo estral. A proestro, B estro, C metaestro, D diestro.

A análise estatística foi realizada por meio do software Graph-Pad Prism 8. Os dados de peso e número de ciclos foram comparados pelo teste two-way ANOVA, o tempo em estro foi comparado pelo teste one-way ANOVA, para comparar os resultados foi utilizado o PostHoc teste t. Os resultados são

apresentados como média \pm SEM e foram considerados significativos valores de P menores ou iguais a 0,05.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo alimentado com a dieta HF apresentou um ganho de peso significativamente maior em comparação aos grupos CTL e IWD ($p<0,05$). Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos IWD e SWD, bem como entre CTL e IWD, sugerindo que a composição da dieta HF desempenhou um papel crucial no aumento de peso, enquanto as outras dietas tiveram efeitos menos intensos sobre o metabolismo energético (Fig. 2). Esse resultado reforça o impacto das dietas ricas em gordura na indução de obesidade em camundongos.

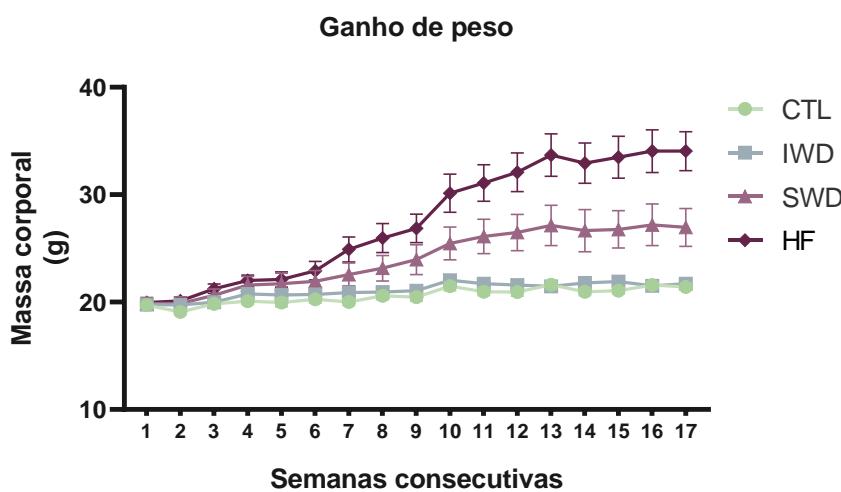


Fig. 2 Ganho de peso dos animais, iniciando na semana 1 e sucedendo 16 semanas de tratamento.

Embora a obesidade seja frequentemente associada a distúrbios reprodutivos, como ciclos anormais e infertilidade (ZHENG et al., 2024), apesar de uma tendência crescente do número de estros nos grupos de tratamento em relação ao controle, observou-se que apenas os camundongos alimentados com a dieta SWD permaneceram por mais tempo na fase de estro (Fig. 3). As fases proestro, metaestro e diestro tiveram uma frequência semelhante entre todos os grupos. Esse achado é importante, pois sugere que a dieta, e não necessariamente o ganho de peso, pode influenciar diretamente a ciclicidade reprodutiva.

O estro tem um papel direto na fertilidade e na maturidade sexual, pois ocorrem alterações hormonais agudas e a ovulação nessas fases (LENERT et al., 2020) O Estudo de DRI et al. (2020) indicam que a resistência à insulina, associada a dietas ricas em gorduras e carboidratos, pode afetar a dinâmica da reserva ovariana e a sobrevivência dos óócitos (DRI et al., 2021). Dessa forma, o prolongamento da fase de estro nos camundongos alimentados com SWD, mas não com HF, pode ser explicado por essas alterações hormonais, interferindo na regularidade do ciclo estral, prolongando o período de estro, o que potencialmente impacta a fertilidade a longo prazo. Esses achados enfatizam a importância de compreender como a composição da dieta pode influenciar a função reprodutiva, independentemente do peso corporal.

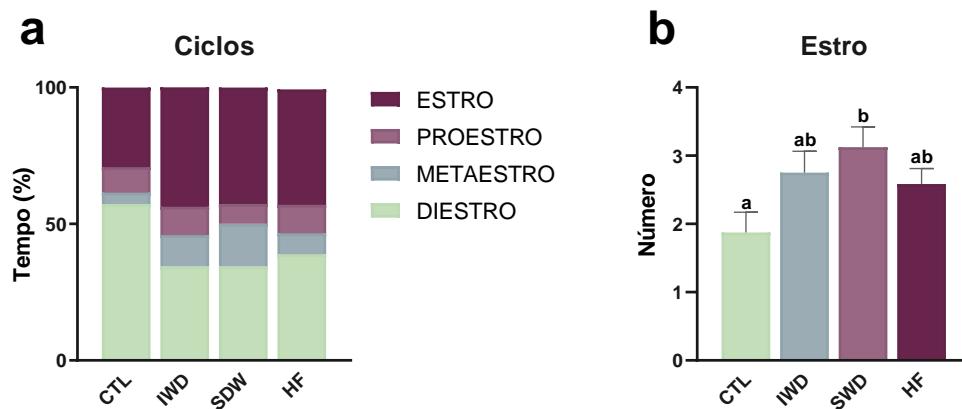


Fig. 3 Ciclo estral dos animais. (a) % do tempo medido em cada ciclo; (b) número de estros, ou períodos férteis, apresentados durante a citologia.

4. CONCLUSÕES

Dietas ricas em gordura e de padrão ocidental afetam de maneira distinta tanto o ganho de peso quanto a função reprodutiva. Enquanto a dieta rica em gordura (HF) foi a principal responsável pelo aumento significativo de peso, a dieta ocidental regular (SWD) mostrou-se determinante na alteração do ciclo estral, prolongando o tempo em estro independentemente do ganho de peso. Esses achados reforçam que a composição dietética pode influenciar diretamente a fertilidade, destacando a necessidade de estratégias preventivas focadas em intervenções nutricionais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORA MC, KOOISTRA L, TRAVLOS G. Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. **Toxicologic Pathology**. 2015;43(6):776-793.
doi:10.1177/0192623315570339
- DRI, M., KLINGER, F. G., & DE FELICI, M. The ovarian reserve as target of insulin/IGF and ROS in metabolic disorder-dependent ovarian dysfunctions. **Reproduction and Fertility**, 2(3), R103-R112, 2021
- LENERT, M. E., CHAPARRO, M. M., & BURTON, M. D. Homeostatic Regulation of Estrus Cycle of Young Female Mice on Western Diet. **Journal of the Endocrine Society**, 5(4), 2021.
- SKAZNIK-WIKIEL, M. E., SWINDLE, D. C., ALLSHOUSE, A. A., POLOTSKY, A. J., & MCMANAMAN, J. L. High-Fat Diet Causes Subfertility and Compromised Ovarian Function Independent of Obesity in Mice. **Biology of reproduction**, 94(5), 108. 2016.
- ZHENG L, YANG L, GUO Z, YAO N, ZHANG S, PU P. Obesity and its impact on female reproductive health: unraveling the connections. **Front Endocrinol (Lausanne)**;14:1326546, 2024.