

## RESTRIÇÃO DE PROTEÍNA OU BCAA E EXERCÍCIO DE RESISTÊNCIA ATENUAM A DEPLEÇÃO OVARIANA E A INFLAMAÇÃO INDUZIDAS POR DIETA RICA EM GORDURA

CÉSAR A. PINZÓN-OSORIO<sup>1</sup>; JÉSSICA D. HENSE<sup>2</sup>, LARISSA SANDER MAGALHÃES<sup>2</sup>, INÊS LACO DE ASSIS<sup>2</sup>, BIANKA MACHADO ZANINI<sup>2</sup>, AUGUSTO SCHNEIDER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, Brazil – capinzono@unal.edu.co

<sup>2</sup>Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, (UFPEL), Pelotas, RS, Brazil – jeeh.hense@hotmail.com; larissasama@hotmail.com; in3slaco@gmail.com; bianka\_zanini@hotmail.com; augusto.schneider@ufpel.edu.br

### 1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento ovariano, caracterizado pela ativação irreversível dos folículos primordiais, leva à depleção progressiva da reserva ovariana e no declínio da fertilidade feminina (Gleicher; Weghofer; Barad, 2011). Fatores ambientais, como dieta e sedentarismo, podem influenciar diretamente esse processo por meio da ativação de vias celulares como mTOR e PI3K/AKT, que regulam o recrutamento folicular (Skaznik-Wikiel et al., 2016)

Dietas ricas em gordura (HF) promovem ganho de peso, resistência à insulina, elevação de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA) circulantes e hiperativação de mTOR, acelerando a perda da reserva ovariana (Skaznik-Wikiel et al., 2016). Também induzem inflamação sistêmica e ovariana, marcada por macrófagos M1 produtores de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  e identificados por CD68/CD80 (Isola et al., 2024). Em contraste, exercício de resistência e restrição de proteína ou BCAA reduzem peso, melhoram a sensibilidade à insulina e aumentam a oxidação de BCAA (Cummings et al., 2018), podendo atenuar inflamação e preservar a reserva ovariana, embora seus efeitos ainda sejam pouco elucidados no contexto da obesidade.

Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da HF, com ou sem exercício de resistência, restrição de proteína ou de BCAA, sobre a reserva ovariana e a inflamação no ovário de camundongos fêmeas entre 6 e 9 meses de idade.

### 2. METODOLOGIA

Fêmeas C57BL/6 com três meses de idade (n=59) foram mantidas sob condições controladas (22  $\pm$  1 °C, ciclo claro-escuro de 12h) com acesso *ad libitum* à água e ração. Inicialmente, um grupo controle (CTL+SE; n=11) recebeu dieta padrão durante todo o período experimental, enquanto as demais fêmeas foram submetidas, por três meses, a dieta rica em gordura (HF; 60% das calorias provenientes de gordura).

Inicialmente, os animais foram submetidos por três meses a dieta rica em gordura (HF, 60% das calorias provenientes de gordura; n=48). Aos seis meses de idade, as fêmeas do grupo HF foram subdivididas em quatro tratamentos:

sedentário (HF+SE; n=11), exercício de resistência (HF+EX; n=11), dieta baixa caloria (HF+CTL; n=7), restrição proteica (7% de energia da dieta; HF+RP; n=9) e restrição de BCAA (redução de 67% em dieta isocalórica/isoproteica; HF+RBCAA; n=10). O protocolo de exercício foi implementado usando um protocolo de escalada em escada (Kim et al., 2015). As sessões de treinamento foram realizadas em uma escada vertical de 1 metro com espaçamento de 1,5 cm entre os degraus e uma inclinação de 85°. Houve aumento progressivo de carga até atingir 200% do peso corporal na semana 10. As intervenções foram conduzidas dos 6 aos 9 meses de idade.

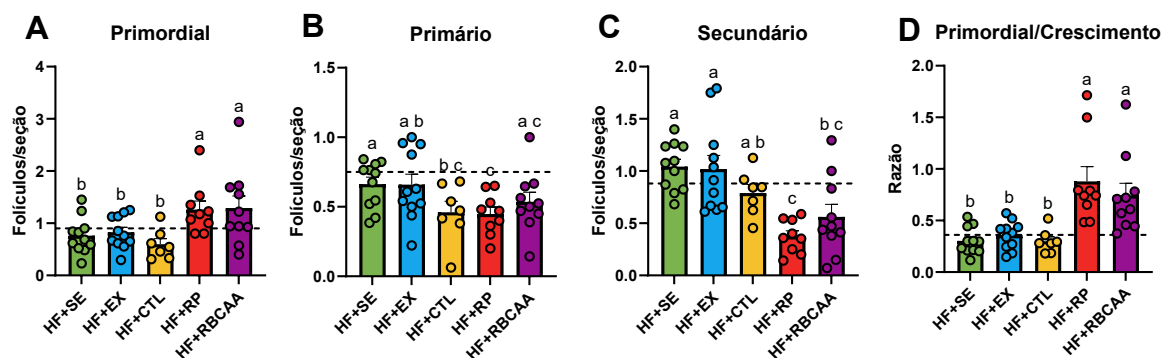
Ovários foram coletados após eutanásia sob jejum de 4h, e armazenados em -80 °C e paraformaldeído 4% até posterior análise. Os ovários foram processados para análise histológica (H&E) e imunohistoquímica para os marcadores CD68 (Proteintech®) e CD80 (Abcam®). A contagem de folículos primordiais foi realizada em cortes seriados com base na morfologia folicular. A expressão inflamatória foi quantificada em campos de 10× utilizando o software ImageJ.

As análises estatísticas foram realizadas usando o software estatístico Graphpad Prism 10. As medias foram comparadas através de análise de variância de duas vias (ANOVA A de duas vias), com pós-teste de Tukey com significância estabelecida em  $P < 0,05$ . Todos os dados são relatados como médias  $\pm$  erro padrão da média (médias  $\pm$  SEM)

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

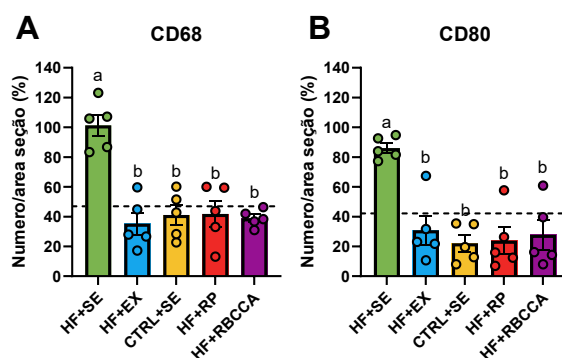
A dieta rica em gordura associada ao sedentarismo (HF+SE) não reduziu significativamente o número de folículos primordiais em comparação ao grupo controle ( $P > 0,05$ ; Figura 1). No entanto, as intervenções de restrição proteica (HF+RP) e de restrição de BCAA (HF+RBCAA) preservaram a reserva ovariana, com maior número de folículos primordiais em relação ao grupo HF+SE ( $P < 0,05$ ; Figura 1). Esses achados sugerem que a modulação da composição proteica da dieta exerce efeito protetor contra a ativação folicular como foi previamente sugerido (Zhang et al., 2014).

Os grupos HF+RBCAA e HF+RP apresentaram as maiores contagens de folículos primordiais, sendo inclusive superiores ao grupo controle (CTL+SE;  $P < 0,05$ ; Figura 1). A restrição de BCAA tem sido associada à inibição da via mTOR e à preservação da longevidade (Solon-Biet et al., 2015; Trautman; Richardson; Lamming, 2022). De forma consistente, as menores contagens de folículos primários (HF+RP) e secundários (HF+RP; HF+RBCAA), associadas a uma razão primordial/crescente mais elevada, indicam menor ativação folicular. Em contraste, os grupos HF+SE, HF+EX e CTL apresentaram maior progressão do recrutamento, sugerindo ativação acelerada e potencial depleção da reserva ovariana.



**Figura 1.** Quantificação de folículos primordiais, primários e secundários por secção ovariana, e razão folículos primordiais/folículos em crescimento em camundongos fêmeas. Grupos com letras diferentes diferem estatisticamente (ANOVA,  $P < 0,05$ ).

O grupo HF+SE apresentou maior expressão ovariana de CD68 e CD80 ( $P < 0,05$ ; Figura 2), indicando um ambiente inflamatório local aumentado em comparação ao grupo controle. Dietas obesogênicas induzem inflamação ovariana mediada por macrófagos M1 (Hohos et al., 2018). Em contraste, HF+EX, HF+RP e HF+RBCAA reduziram esses marcadores a níveis semelhantes ao controle, possivelmente pela melhora mitocondrial e modulação inflamatória promovida pelo exercício e restrições dietéticas (Cummings et al., 2018; Xinyan et al., 2025).



**Figura 2.** Expressão dos marcadores inflamatórios CD68 (A) e CD80 (B) no ovário de camundongos fêmeas. Grupos com letras diferentes diferem estatisticamente (ANOVA,  $P < 0,05$ ).

HF+RP e HF+RBCAA apresentaram reduções semelhantes, sugerindo mecanismos convergentes relacionados à atenuação da via mTOR e do metabolismo de BCAA, com menor recrutamento de macrófagos M1 (Isola et al., 2024). Essas intervenções não apenas preservam a reserva ovariana, mas também reduzem a inflamação local sob dieta rica em gordura.

#### 4. CONCLUSÕES

Este estudo mostra que a HF acelera o envelhecimento ovariano ao promover inflamação local apesar de não afetar a reserva ovariana. Em contrapartida, o exercício de resistência e as restrições de proteína ou de BCAA mostraram-se estratégias eficazes para atenuar a inflamação induzida pela dieta, oferecendo potencial para mitigar os efeitos reprodutivos adversos associados ao

excesso de HF. Somente a restrição de proteínas e BCAAs foi capaz de promover preservação da reserva ovariana no modelo obeso.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CUMMINGS, Nicole E. *et al.* Restoration of metabolic health by decreased consumption of branched-chain amino acids. **The Journal of physiology**, v. 596, n. 4, p. 623–645, 2018.

GLEICHER, Norbert; WEGHOFER, Andrea; BARAD, David H. Defining ovarian reserve to better understand ovarian aging. **Reproductive biology and endocrinology**, v. 9, n. 1, p. 23, 2011.

HOHOS, Natalie M. *et al.* High-fat diet exposure, regardless of induction of obesity, is associated with altered expression of genes critical to normal ovulatory function. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 470, p. 199–207, 2018.

ISOLA, José VV *et al.* A single-cell atlas of the aging mouse ovary. **Nature Aging**, v. 4, n. 1, p. 145–162, 2024.

KIM, Hee-jae *et al.* Resistance exercise training increases the expression of irisin concomitant with improvement of muscle function in aging mice and humans. **Experimental gerontology**, v. 70, p. 11–17, 2015.

SKAZNIK-WIKIEL, Malgorzata E. *et al.* High-fat diet causes subfertility and compromised ovarian function independent of obesity in mice. **Biology of reproduction**, v. 94, n. 5, p. 108–1, 2016.

SOLON-BIET, Samantha M. *et al.* Macronutrients and caloric intake in health and longevity. **The Journal of endocrinology**, v. 226, n. 1, p. R17, 2015.

TRAUTMAN, Michaela E.; RICHARDSON, Nicole E.; LAMMING, Dudley W. Protein restriction and branched-chain amino acid restriction promote geroprotective shifts in metabolism. **Aging cell**, v. 21, n. 6, p. e13626, 2022.

XINYAN, Chen *et al.* Exercise-diet intervention ameliorates but fails to fully reverse obesity-induced ovarian dysfunction: evidence spanning folliculogenesis to embryonic development. **Journal of Ovarian Research**, v. 18, n. 1, p. 160, 2025.

ZHANG, Hua *et al.* Somatic cells initiate primordial follicle activation and govern the development of dormant oocytes in mice. **Current Biology**, v. 24, n. 21, p. 2501–2508, 2014.