

IMPACTO DE DIETAS OCIDENTAIS E HIPERLIPÍDICAS SOBRE A RESERVA OVARIANA EM CAMUNDONGOS C57BL/6

GIULIA DA CUNHA PEREIRA¹, JESSICA DAMÉ HENSE², ANA JÚLIA NUNES DA SILVA³, JULIANE BRISTOT PROSCZEK⁴, TARCISIO HENRIQUE PEREIRA⁵, AUGUSTO SCHNEIDER⁶

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

¹*Universidade Federal de Pelotas – jeeh.hense@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – annajulianunes153@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas - julianeprosczek@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas - tarcisio.henrique95@gmail.com*

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

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, transformações sociais, econômicas e culturais têm influenciado diretamente a trajetória reprodutiva das mulheres (MILLS et al., 2011). A busca por estabilidade financeira, o avanço educacional e a consolidação da carreira têm levado, em diversos países, ao adiamento da maternidade (MILLS et al., 2011). Embora compreensível do ponto de vista social, esse fenômeno conflita com a biologia reprodutiva feminina, caracterizada por uma janela fértil limitada e pela diminuição progressiva e irreversível da reserva ovariana (BROEKMAN et al., 2009). Esse cenário torna-se ainda mais crítico quando associado à obesidade, condição que aumenta risco de menopausa precoce, se relaciona à infertilidade, anovulação e resposta inadequada à estimulação ovariana em tratamentos de reprodução assistida, potencializando o impacto reprodutivo da idade materna avançada sobre a fertilidade (JUNGHEIM et al., 2013).

O envelhecimento ovariano está associado ao esgotamento da reserva folicular ovariana, a qual é definida durante a vida fetal em mulheres (BAKER, 1963) e logo após o nascimento em camundongos (PETERS, 1969). A reserva ovariana é constituída principalmente de folículos primordiais, que são continuamente recrutados ao longo da vida reprodutiva. Uma vez ativados, esses folículos seguem para ovulação ou tornam-se atrésicos, processo que é irreversível (BAKER, 1963). O recrutamento e a ativação progressiva dos folículos primordiais levam à depleção gradual da reserva ovariana, que, nas mulheres, resulta na redução da fertilidade e culmina com o seu esgotamento e início da menopausa (LIU et al., 2006).

Nesse contexto, diversos estudos demonstram que uma dieta rica em gorduras (HFD) promove ganho de peso, resistência à insulina e acelera a perda da reserva ovariana em camundongos (SKAZNIK-WIKIEL et al., 2016). Embora amplamente utilizada como modelo experimental para induzir obesidade experimental, HFD apresenta limitações importantes quando comparado à Western diet (WD). Apesar de ambas induzirem ganho de peso e resistência insulínica, a HFD não reflete com precisão a composição nutricional típica das dietas humanas (ZHANG et al., 2022), o que restringe a aplicabilidade dos resultados. Por outro lado, modelos baseados em dietas ocidentais, que combinam alta gordura, elevada quantidade de frutose e colesterol, reproduzem de forma mais fiel em roedores o fenótipo de obesidade, a disbiose intestinal e as alterações metabólicas observadas em humanos (TURNBAUGH et al., 2008; MADDIE et al., 2024).

O consumo crônico de dieta rica em gordura está associado a alterações deletérias no microambiente ovariano. Estudos em camundongos mostram que a

exposição prolongada à HFD induz um estado de inflamação crônica de baixo grau, caracterizado por infiltração de células imunes, aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo no tecido ovariano (ZHANG et al., 2022). Esse ambiente inflamatório prejudica a qualidade dos oócitos e a função das células da granulosa, comprometendo a competência meiótica e a capacidade de fertilização, além de levar a depleção precoce da reserva ovariana (ZHANG et al., 2022). Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes composições dietéticas sobre a dinâmica da reserva folicular em camundongos.

2. METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizados 48 camundongos fêmeas C57BL/6 de 3 meses de idade, distribuídos aleatoriamente em quatro grupos dietéticos ($n=12/\text{grupo}$): dieta padrão (CTL; 3,95 Kcal/g, 64,3% CHO, 15,5% LIP, 20,3% PTN), dieta ocidental normocalórica (MWD; 3,95 Kcal/g, 64,3% CHO, 15,5% LIP, 20,3% PTN), dieta ocidental (WD; 4,82 Kcal/g, 38,2% CHO, 45,3% LIP, 16,6% PTN) e dieta hiperlipídica (HF; 5,57 Kcal/g, 22,3% CHO, 63,4% LIP, 14,4% PTN). As dietas foram oferecidas ad libitum até os animais completarem sete meses de idade.

Ao final do período de tratamento, os camundongos foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por exsanguinação com punção cardíaca. Os ovários foram coletados para posteriormente serem submetidos a processamento histológico padrão. Cortes seriados de 5 µm foram obtidos, sendo uma secção a cada doze posicionada em lâmina histológica. Após coloração com hematoxilina-eosina, as lâminas foram analisadas em microscópio com aumento de 40x. Foram contabilizados apenas folículos com núcleos de oócitos visíveis, classificados em: primordiais, de transição, primários, secundários e terciários. O número de folículos foi apresentado pela média de folículos por corte.

A estatística foi realizada por meio do software Graph-Pad Prism 10. Os dados de contagem folicular foram comparados pelo teste two-way ANOVA. 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

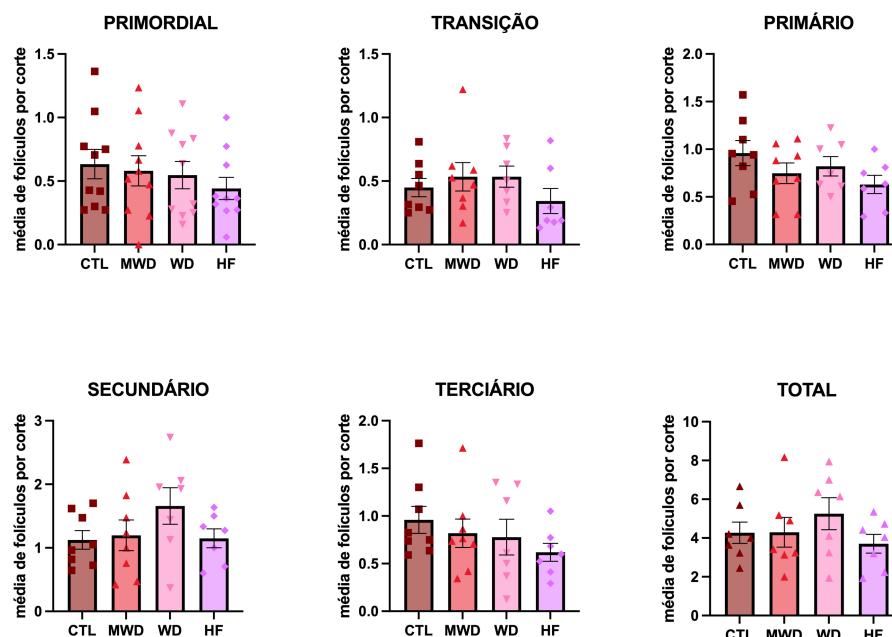


Figura 1. Contagem média de folículos ovarianos por corte histológico em camundongos C57BL/6 submetidos a diferentes regimes dietéticos. Os grupos experimentais consistiram em: controle (CTL), dieta ocidental modificada (MWD), dieta ocidental (WD) e dieta hiperlipídica (HF). Os dados são expressos como média ± erro padrão da média.

A análise revelou que não houve diferença significativa na contagem de folículos por corte entre os grupos dietéticos, em nenhum estágio do desenvolvimento folicular. Estudos prévios apontam que a HFD induz resistência à insulina, dislipidemia e disfunção mitocondrial, fatores que aceleram a ativação folicular (SKAZNIK-WIKIEL et al., 2016). Entretanto, a magnitude desses efeitos parece ser dependente do tempo de exposição, composição da dieta e idade dos animais (ZHANG et al., 2022). Os resultados deste estudo sugerem que o inicio tardio e curto período de exposição às dietas pode ter sido insuficiente para desencadear alterações morfológicas detectáveis nos ovários.

Ainda assim, estudos recentes indicam que seus efeitos deletérios sobre a reserva ovariana podem requerer um maior ganho de peso e exposições prolongadas para serem plenamente manifestados. Por exemplo, SKAZNIK-WIKIEL et al. (2016) demonstraram que a redução significativa da reserva folicular está associada ao ganho ponderal mais acentuado, sendo os efeitos menos pronunciados em animais que mantiveram peso corporal estável apesar da ingestão de dieta rica em gordura. Por outro lado, estudo de ZHANG et al. (2022) observaram que, mesmo após 180 dias de exposição a uma dieta hipercalórica com indução de hiperinsulinemia e hiperlipidemia, não houve alterações significativas na contagem de folículos ovarianos em camundongos, sugerindo que nem sempre as alterações metabólicas são suficientes para comprometer a reserva ovariana. Assim, a ausência de diferenças significativas observada neste estudo pode refletir uma fase inicial de adaptação ovariana, em que as alterações metabólicas decorrentes da obesidade ainda não se traduziram em depleção folicular. Estudos longitudinais, com períodos de exposição mais longos ou em modelos com ganho ponderal mais acentuado, são essenciais para elucidar o impacto das dietas ocidentais sobre a reserva ovariana ao longo do tempo.

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que no intervalo temporal avaliado, tanto a dieta hiperlipídica quanto as dietas ocidentais não promoveram alterações significativas na quantidade de folículos ovarianos em camundongos. Esse achado sugere que o impacto da obesidade induzida por dieta sobre a reserva ovariana pode depender de períodos mais prolongados de exposição, bem como de outros fatores moduladores do microambiente ovariano. Estudos futuros devem considerar períodos mais extensos de indução de obesidade para investigar o comprometimento estrutural e funcional da reserva folicular.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, T. G. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, Londres, v.158, n.972, p.417-433, 1963.
- BROEKMAN, F. J. M.; SOULES, M. R.; FAUSER, B. C. J. M. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocrine Reviews*, [S.I.], v.30, n.5, p.465-493, 2009.
- MILLS, M.; RINDFUSS, R. R.; McDONALD, P.; TE VELDE, E. Why do people postpone parenthood? Reasons and social policy incentives. *Human Reproduction Update*, [S.I.], v.17, n.6, p.848-860, 2011.
- PÉTERS, H. The development of the mouse ovary from birth to maturity. *Acta Endocrinologica*, [S.I.], v.62, suppl. 142, p.1-44, 1969.
- LIU, L.; RAJAREDDY, S.; REDDY, P.; DU, C.; JAGARLAMUDI, K.; SHEN, Y.; LIU, K. Infertility caused by retardation of follicular development in mice with oocyte-specific expression of Foxo3a. *Development*, [S.I.], v.134, n.1, p.199-209, 2007.
- 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*, [S.I.], v.94, n.5, p. 2016.
- TURNBAUGH, P. J.; BÄCKHED, F.; FULTON, L.; GORDON, J. I. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host & Microbe*, [S.I.], v.3, n.4, p.213-223, 2008.
- MADDIE, N.; CHACKO, N.; MATATOV, D.; CARRILLO-SEPULVEDA, M. A. Western diet promotes the progression of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease in association with ferroptosis in male mice. *Physiological Reports*, [S.I.], v.12, n.23, p.e70139, 2024.
- ZHANG, Q. L.; WANG, Y.; LIU, J. S.; DU, Y. Z. Effects of hypercaloric diet-induced hyperinsulinemia and hyperlipidemia on the ovarian follicular development in mice. *The Journal of Reproduction and Development*, [S.I.], v.68, n.3, p.173-180, 2022.