



Efeito da desnutrição materna durante a gestação no desenvolvimento ovariano inicial e subsequente desenvolvimento folicular em fetos de ovelhas

Reproduction. IF – 3,073

**Apresentadores: Lauryn dos Santos Machado
Marcos Rossi**

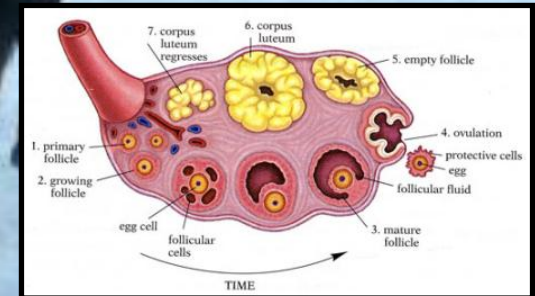
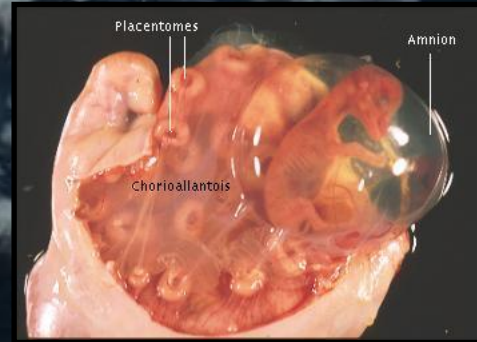
Orientação: Luiz Francisco Machado Pfeifer

Pelotas, 10 de fevereiro de 2011

Introdução



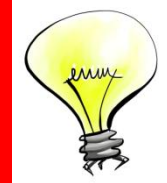
Borwick et al., 1997



**Desconhecimento de períodos em que
a restrição alimentar afeta o
desenvolvimento ovariano de
fetos ovinos**



Desconhecimento de períodos
a restrição alimentar afeta o
desenvolvimento ovariano de
fetos ovinos



Determinar os efeitos sobre o desenvolvimento ovariano em fetos de ovelhas expostas a desnutrição materna aplicados em diferentes estádios específicos de gravidez

Períodos de gestação

00 - 30 dias



Diferenciação do ovário fetal

31 - 50 dias



Crescimento do ovário

31 - 65 dias



Crescimento da célula germinativa e meiose

65 -110 dias



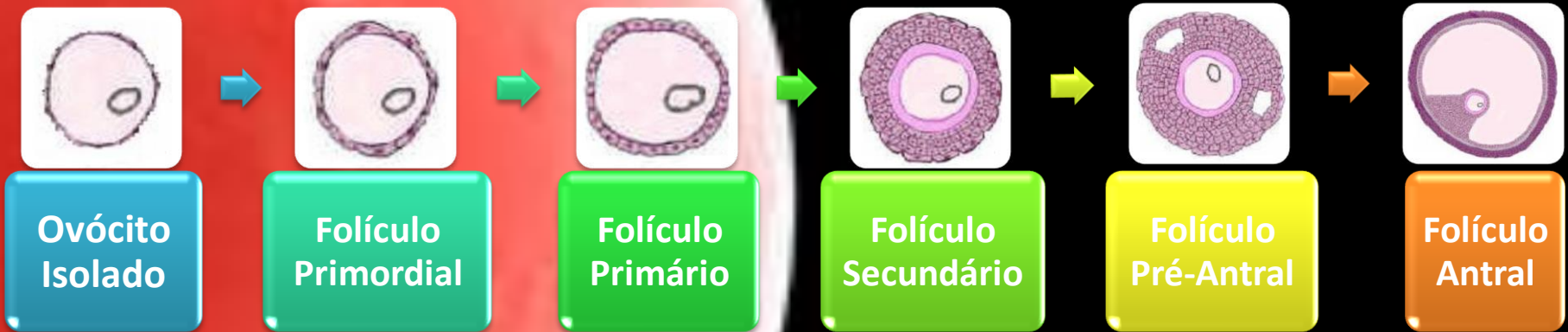
Foliculogênese

Foliculogênese?

→ O que são folículos?

→ Qual a função dos folículos?

→ Quantos folículos uma ovelha possui?



Todas as ovelhas foram acasaladas com um cio sincronizado após o tratamento, por 14 dias, com pessários intravaginais progestágeno (Chronolone, 30 mg; Intervet, Cambridge).

Alimentação



energia metabolizável (EM)



Materiais e Métodos

Todas as ovelhas foram acasaladas com um cio sincronizado após o tratamento, por 14 dias, com pessários intravaginais progestágeno (Chronolone, 30 mg; Intervet, Cambridge).

Alimentação



energia metabolizável (EM)



Materiais e Métodos

Todas as ovelhas foram acasaladas com um cio sincronizado após o tratamento, por 14 dias, com pessários intravaginais progestágeno (Chronolone, 30 mg; Intervet, Cambridge).

Alimentação



energia metabolizável (EM)

Alta "A" – 8 MJ – 100% exigências

Baixa "B" – 4 MJ – 50% exigências



**Intervalos
de 21 dias**



Dia 80



Recolhimento e processamento de tecidos



Ovelhas foram abatidas no dia 50, 65 ou 110 de prenhez;



Fetos do sexo feminino foram recuperados e pesados;



Ovários fetais foram removidos, pesados e preparados para análises histológicas.



Experimento 1

Ovelhas (n = 15-19 por grupo) com peso vivo médio de $59,0 \pm 0,62$ kg e ECC médio de $2,46 \pm 0,02$ ao acasalamento

AA

0 – 50 dias

BA

0 – 31 – 50 dias

AB

0 – 31 – 50 dias

BB

0 – 50 dias

Abate aos 50 dias de gestação

Ovários fetais foram corados por imunohistoquímica para PCNA segundo Murray (2000)

Experimento 2

Ovelhas (n = 12 - 13 por grupo) com peso vivo médio de $58,7 \pm 0,82$ kg e ECC médio de $2,44 \pm 0,03$ ao acasalamento

AA

0 - 65 dias

BA

0 - 31 - 65 dias

AB

0 - 31 - 65 dias

BB

0 - 65 dias

4 seções com 5 mm de espessura de cada ovário foram coradas utilizando a reação de Feulgen para contagem de células meióticas

dias e Ovários fetais foram corados por imunohistoquímica para PCNA segundo Murray (2000)

Experimento 3

Ovelhas (n = 11 - 19 por grupo) com peso vivo médio de $59,3 \pm 0,74$ kg e ECC médio de $2,46 \pm 0,02$ ao acasalamento

AAA

0 - 110 dias

BAA

0 - 31 - 110 dias

ABA

0 - 31 - 65 - 110 dias

AAB

0 - 65 - 110 dias

BBB

0 - 110 dias

Abate aos 110 dias de gestação

Experimento 3

De cada ovário fetal, seções de 5 milímetros foram cortadas e coradas com hematoxilina e eosina. Os folículos (apenas os folículos que atravessaram ao corte o plano do núcleo do oócito) foram contados e classificados de acordo com o sistema de Lundy et al. (1999).

Oócito isolado

Folículo tipo 1: folículo primordial

Folículo tipo 1A: folículo transitório

Folículo tipo 2: folículo primário

Folículo Tipo 3: folículo pré-antral pequeno

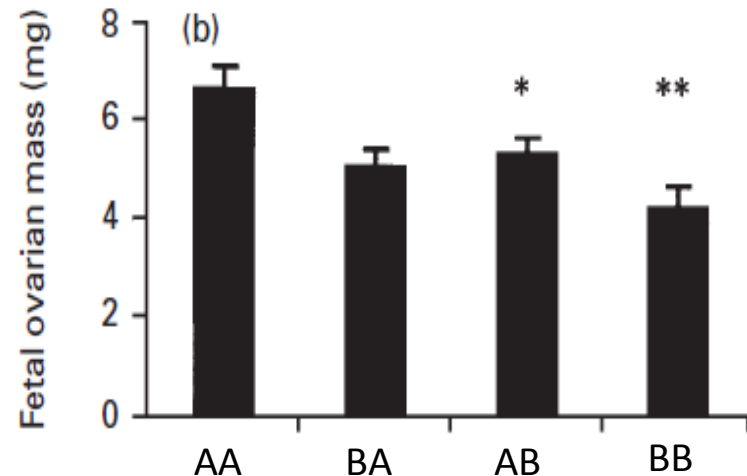
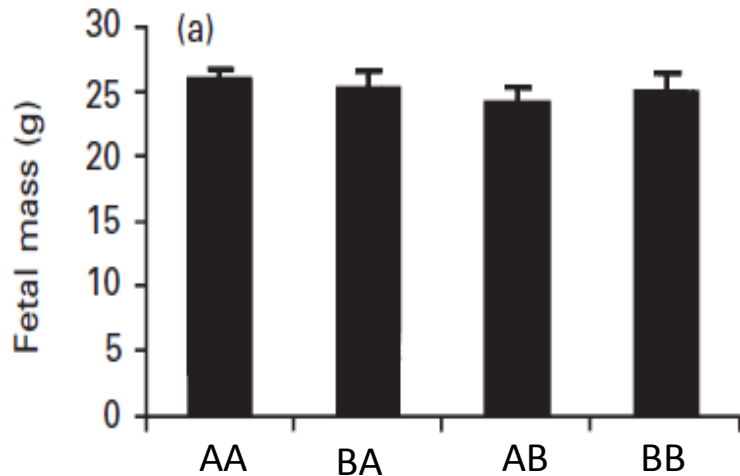
Folículo Tipo 4: folículo grande com 4 ou 5 camadas de células da granulosa



Análise estatística pelo método ANOVA two-way

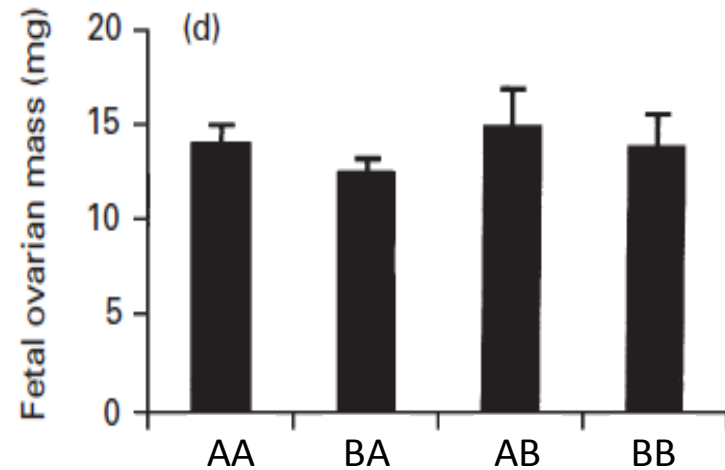
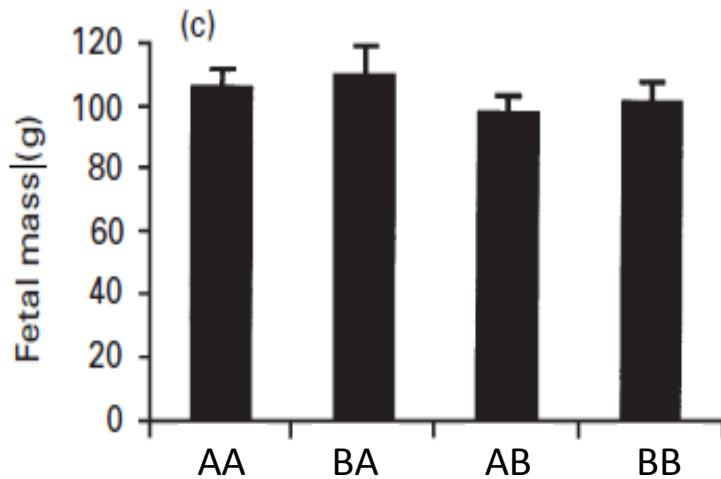


Massa fetal, massa ovariana fetal e o número de células foram analisados separadamente para cada experimento



(a) M... (b) M... de no

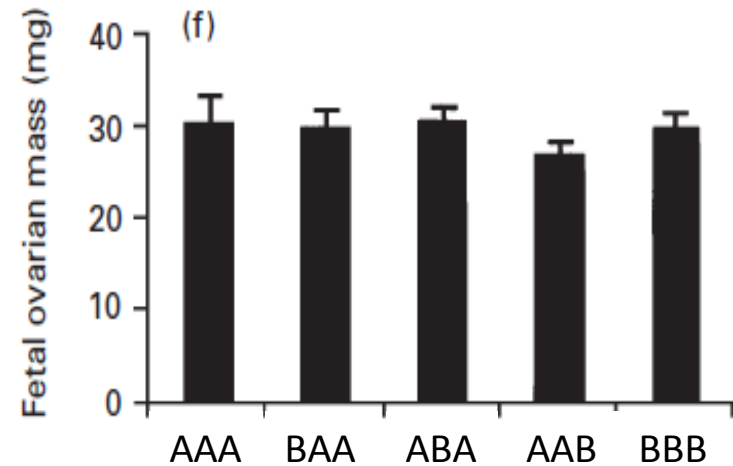
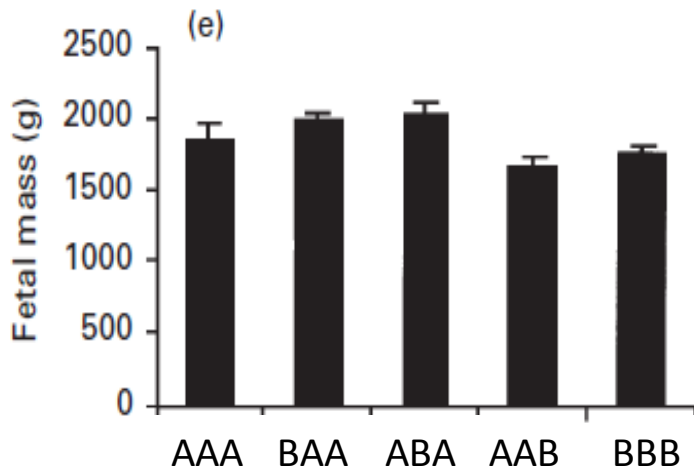
Indicativo de que a desnutrição afeta o desenvolvimento ovariano fetal somente após 30 dias de gestação.



(c) Massa gestação.

Efeito compensatório sobre massa ovariana fetal dos 50 aos 65 dias de gestação

m 65 dias de



A desnutrição imposta na fase fetal até 110 dias de gestação não afeta a massa fetal e nem a massa ovariana fetal

(Gondos, et. al, 1978), sugeriu que oogônias que entram mais tarde em meiose têm pior chance de sobrevivência

	Nutritional treatment							
	AA		BA		AB		BB	
Number of germ cells per mm ²	AAA 24	BAA 7	ABA	AAB 3.2	BBB	29.5 ± 2.01	26.3 ± 2.16	
Percentage of Feulgen-positive germ cells	21.2 ± 1.19			24.0 ± 6.3		19.1 ± 1.45	45.4 ± 1.92*	

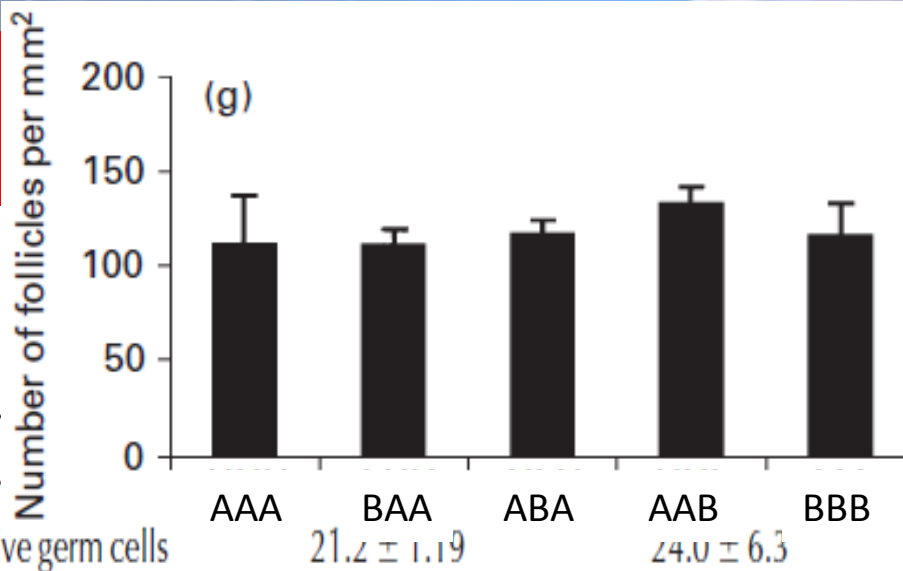
Diferenças significativas em relação ao AAA (valores controle) no experimento: *P < 0.05, ***P < 0.001

Porém, não houve diferença no número total de folículos aos 110 dias

Resultados e Discussão

(Gondos, e
tarde

ue entram mais
revivência

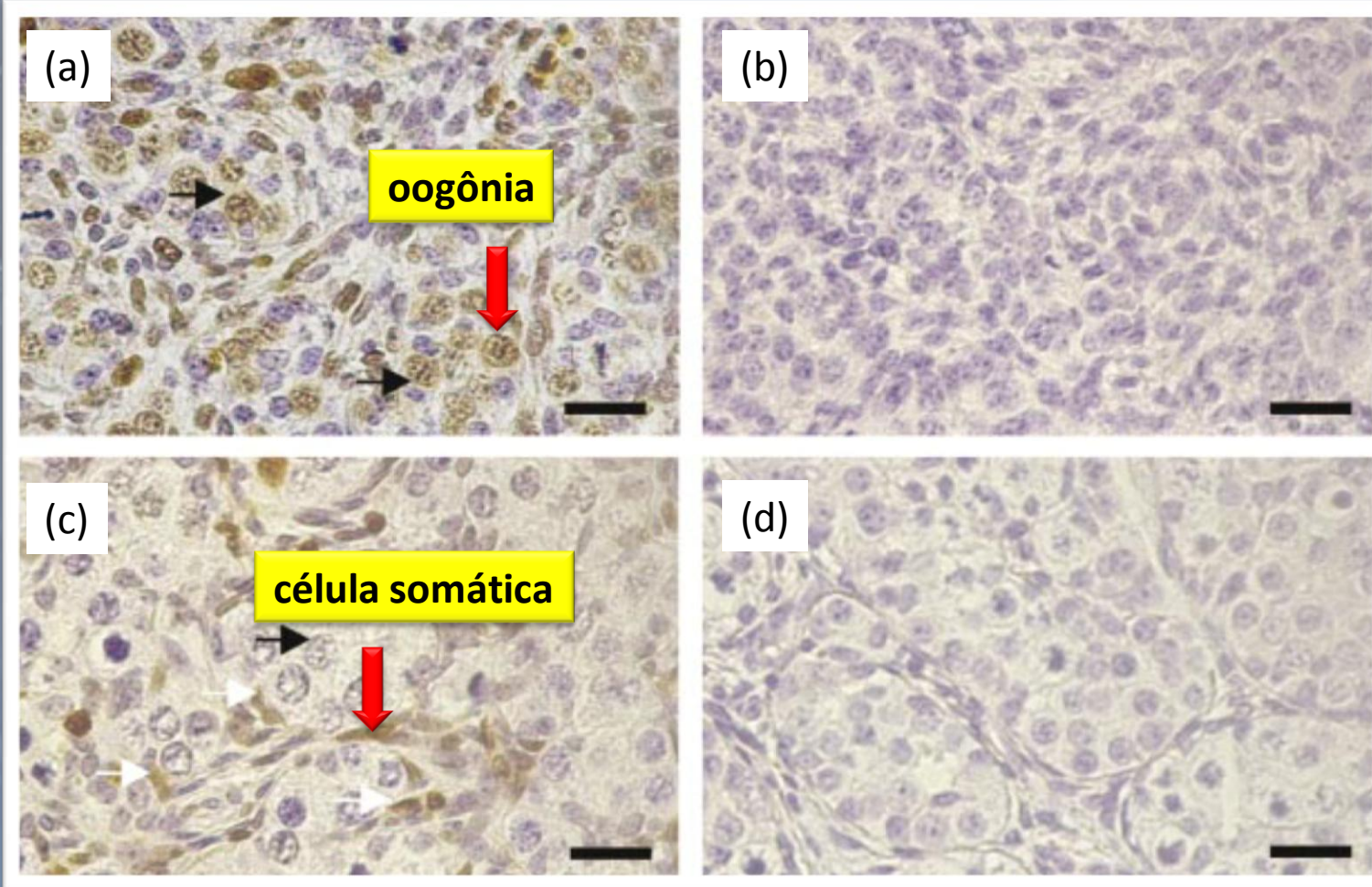


Number of germ cells per mm²
Percentage of Feulgen-positive germ cells

Treatment	AB	BB
	29.5 ± 2.01	26.3 ± 2.46
	19.1 ± 1.45	45.4 ± 1.92*

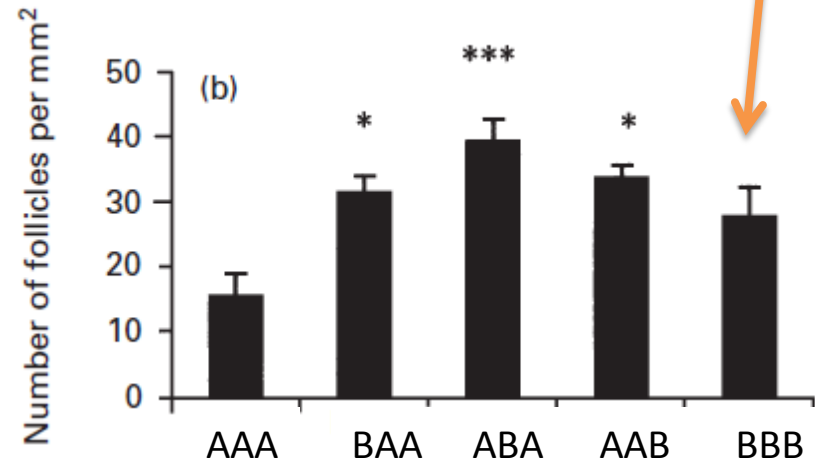
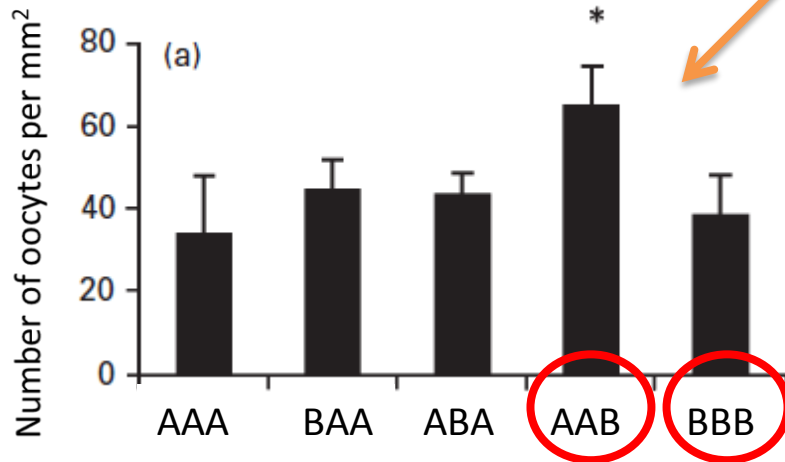
Diferenças significativas em relação ao AAA (valores controle) no experimento: *P < 0.05, ***P < 0.001

Porém, não houve diferença no número total de folículos aos
110 dias

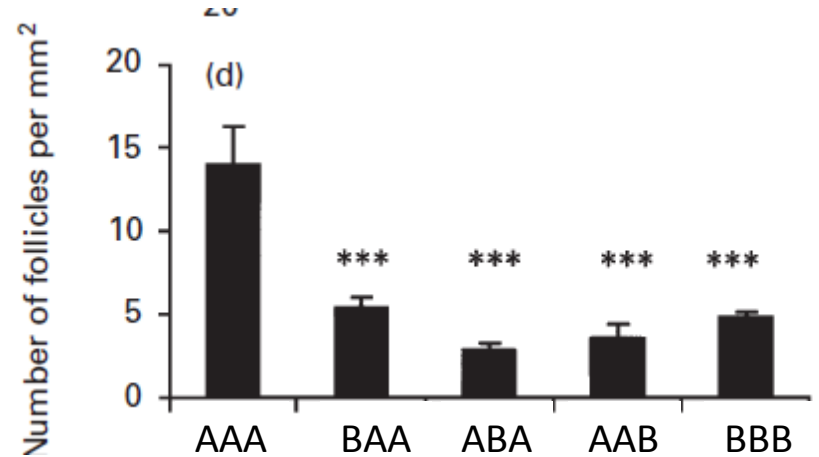
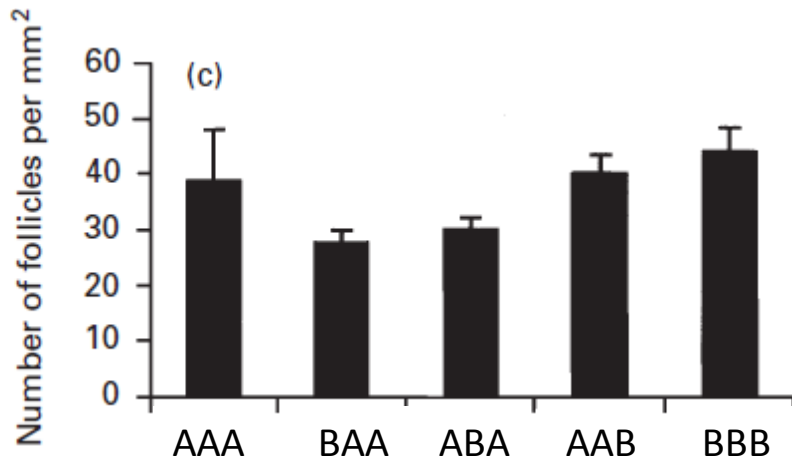


Proliferação predominantemente de células germinativas até o dia 50 de gestação e mudança para proliferação predominantemente de células somáticas até dia 65 dias de gestação

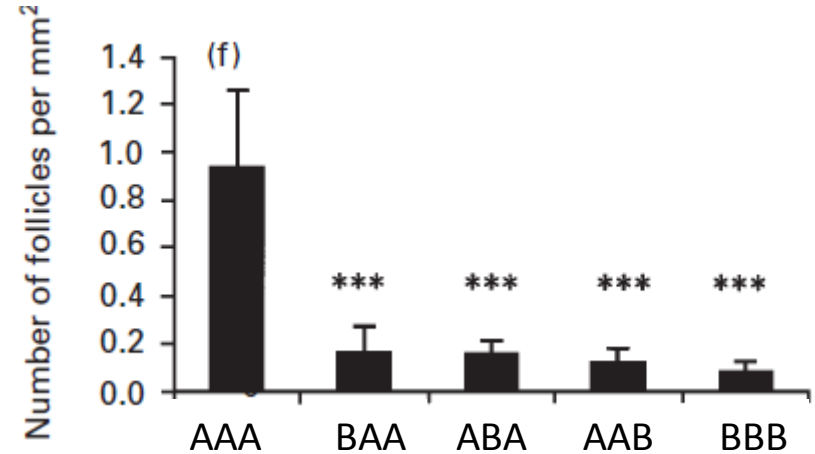
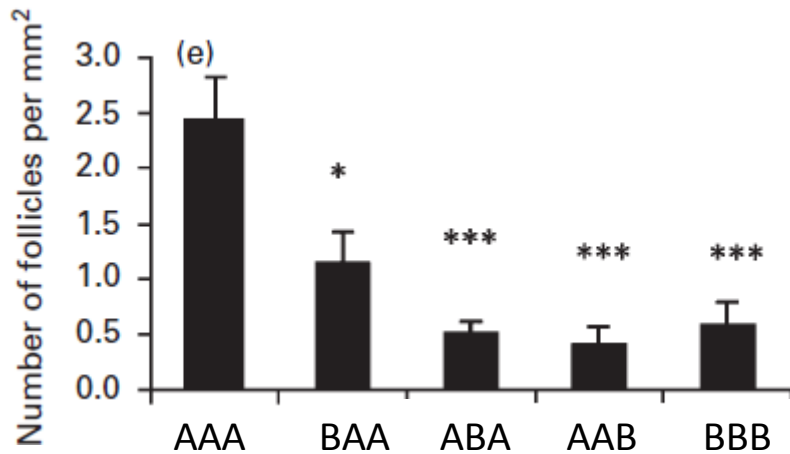
diferenças na resposta à restrição alimentar



(a) Número de ovócitos isolados. (b) Folículos tipo 1. Diferenças significativas em relação ao AAA (valores controle) no experimento: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

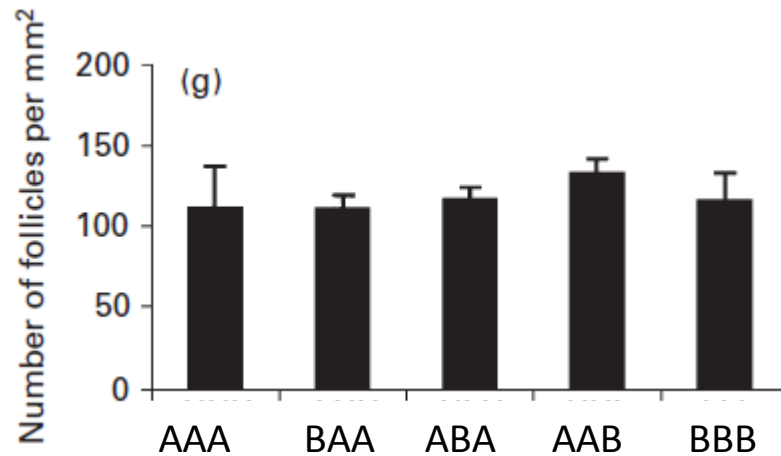


(c) Folículos tipo 1A. (d) Folículos tipo 2. Diferenças significativas em relação AAA (valores controle) no experimento: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

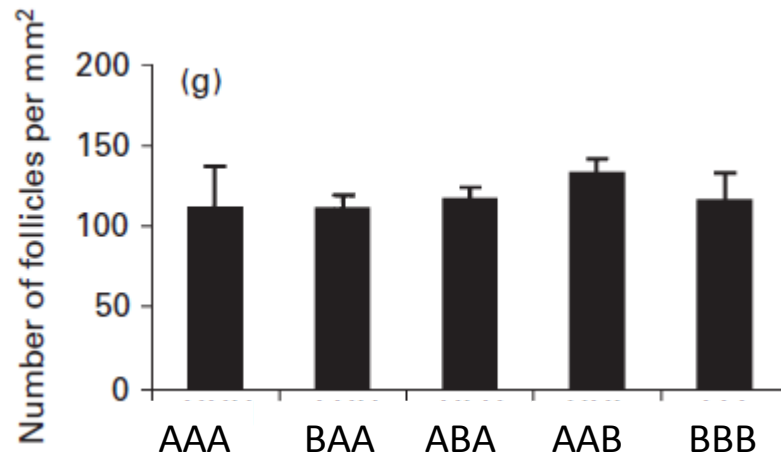


(e) Folículos tipo 3. (f) Folículos tipo 4. Diferenças significativas em relação ao AAA (valores controle) no experimento: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

A desnutrição imposta durante cada período gestacional reduz o desenvolvimento folicular, indicando que a transição de folículos tipo 1 para tipo 4 tenha sido inibida




(g) Total de ovócitos contados a partir de todas as classes de folículos e oócitos isolados. Diferenças significativas em relação ao AAA (valores controle) no experimento: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.



(g) Total de ovócitos **Ausência de folículos tipo 5** e oócitos isolados. Diferenças significativas em relação ao AAA (valores controle) no experimento: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$



McNatty, (2000), em estudos de ovários de fetos ovinos entre 90 e 135 dias de gestação não detectou receptores para FSH e LH



improvável que as mudanças na função pituitária fetal desempenham papel importante na mediação dos efeitos da desnutrição sobre o desenvolvimento ovariano fetal



Conclusão

A restrição alimentar materna provocou um atraso no desenvolvimento ovariano fetal em ovinos. Este efeito não se limitou às células e aos tecidos presentes somente durante o período de desnutrição, o que indica que um desafio nutricional imposto na fase inicial do desenvolvimento fetal pode ter efeitos nas fases posteriores.



Tabela 2. Média de peso vivo (kg), escores de condição corporal (ECC) aos 20 meses e taxas de ovulação de fêmeas nascidas de ovelhas alimentadas para suprir 100% (A) ou 50% (B) das exigências de manutenção de peso vivo durante a prenhez

Grupo de tratamento	<i>n</i>	Peso vivo	ECC	nº de ovulações
Fêmeas				
A	28	48.6 ± 0.96	2.5 ± 0.03	1.46 ± 0.10 a
B	21	48.2 ± 1.03	2.5 ± 0.03	1.17 ± 0.09 b

Dentro de uma coluna sobrescritos diferentes indicam diferença significativa entre os grupos de tratamento ($P < 0,05$).



LH e FSH

Rae, et. al, 2002

Tabela 2. Média de peso vivo (kg), escores de condição corporal (ECC) aos 20 meses e taxas de ovulação de fêmeas nascidas de ovelhas alimentadas para suprir 100% (A) ou 50% (B) das exigências de manutenção de peso vivo durante a prenhez

Grupo de tratamento	<i>n</i>	Peso vivo	ECC	nº de ovulações
Fêmeas				
A	28	48.6 ± 0.96	2.5 ± 0.03	1.46 ± 0.10 a
B	21	48.2 ± 1.03	2.5 ± 0.03	1.17 ± 0.09 b

Dentro de uma coluna sobrescritos diferentes indicam diferença significativa entre os grupos de tratamento ($P < 0,05$).



Geraseev, et. al
2006





Muito Obrigado!