



## MARCADORES CELULARES NOS OVÁRIOS DE LEITOAS PRÉ-PUBERES SUPLEMENTADAS COM PUFA N-3

Autores: Mayara de Souza Costa Tamanini<sup>1</sup>, Julia Helena Montes<sup>2</sup>, Mariana Cristine Salles<sup>2</sup>, Ivan Bianchi<sup>2</sup>, Elizabeth Schwegler<sup>2</sup>, Fabiana Moreira<sup>3</sup>

**Identificação autores:** Bolsista PIBITI- Edital nº 23/2016 – CNPq<sup>1</sup>; IFC- Campus Araquari<sup>2</sup>; Orientador IFC-Campus Araquari<sup>3</sup>.

### RESUMO

O uso de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) ômega-3 na dieta de animais tem demonstrado benefícios. Este estudo objetivou avaliar os efeitos da suplementação com ômega-3 sobre a imunomarcagem de leptina e seu receptor (ObRb) nos ovários de leitoas pré-púberes. Foram utilizadas leitoas pré-púberes divididas em dois grupos, controle (n=8) que recebeu ração convencional; e o ômega-3 (n=7), onde foi adicionado à dieta um suplemento contendo 12% de DHA durante 52 dias. Após o abate foram coletados os ovários das leitoas para análise de imuno-histoquímica. O uso de ômega-3 reduziu a marcação de leptina e ObRb nos oócitos inclusos em folículos primários.

### INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O início da vida reprodutiva de fêmeas suínas está positivamente correlacionado à sua condição corporal e o seu estado nutricional, e estes parâmetros afetam tanto a idade na qual atingirão a puberdade, quanto na taxa de ovulação durante os primeiros ciclos estrais (PENZ et al., 2009). O uso de suplementos na dieta de animais vem sendo cada vez mais estudado visando ganhos na produtividade, como antecipação da puberdade ou aumento do número de leitões nascidos vivos (SMITS et al., 2011).

A leptina e seu receptor de cadeia longa (ObRb) atuam como um fator permissivo que sinaliza o estado nutricional para a ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, e a medida que as leitoas se aproximam da puberdade, os níveis circulantes





de leptina aumentam (QIAN et al., 1999) e a imunomarcação para ObRb no hipotálamo se torna mais intensa (MOREIRA et al., 2014).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da inclusão de PUFA n-3 na dieta de fêmeas suínas durante a fase de crescimento sobre a imunomarcação de leptina e seu receptor nos ovários.

## **METODOLOGIA**

O experimento foi desenvolvido na Unidade de Ensino e Aprendizagem em Suinocultura – IFC Câmpus Araquari. Foram utilizadas fêmeas suínas pré-púberes cruzadas Landrace x Large White foram usadas (n =15). As fêmeas foram divididas em dois grupos: controle (n=8), que recebeu as dietas convencionalmente usadas; e o grupo Ômega-3 (n=8) no qual foi adicionado à dieta um suplemento comercial contendo DHA extraído de microalgas heterotróficas da espécie *Schizochytrium sp.* como fonte de ômega-3 120g/kg (Alltech®, Araucária, PR, Brasil). Ao longo do período de suplementação (52 dias), as dietas dos grupos foram ofertadas *ad libitum*.

Logo após o desmame, durante os primeiros 4 dias de suplementação, cada um dos grupos foi alojado separadamente em duas baias coletivas com piso de concreto, para adaptação à dieta. Após este período, as fêmeas foram transferidas para gaiolas metabólicas individuais nas quais permaneceram por 17 dias. Posteriormente, no 21º dia do experimento, cada grupo foi colocado em uma baia coletiva suspensa, na qual permaneceram por mais 31 dias. Em todas as instalações, as fêmeas receberam primeiramente 100 g da dieta, uma vez ao dia, no período da manhã. No grupo suplementado, 25 g do suplemento fonte de ômega-3 foram incorporados a 75 g da ração, no momento da sua elaboração e mistura, e para o grupo controle foi fornecido apenas as 100 g de ração.

No abate para cada fêmea, um dos ovários foi acondicionado em um recipiente contendo formol tamponado a 10%, para posterior análise por imuno-histoquímica



(IHC), para avaliar a imunomarcção da leptina e de seu receptor (ObRb). A técnica de IHQ foi realizada de acordo com o que foi descrito por Moreira, et al (2013). Os oócitos foram classificados de acordo com SILVA et al., (2011). Foi avaliada a imunomarcção para leptina e seu receptor (ObRb) no citoplasma e no núcleo dos oócitos separadamente. Foram usados apenas folículos contendo oócitos com clara visibilidade do citoplasma e núcleo, por isso os dados de OIFT foram descartados. As análises do anticorpo de leptina consideraram 110 OIFP e 90 OIFS para citoplasma e o mesmo valor para o núcleo, enquanto as análises do anticorpo ObRb consideraram 96 OIFP e 75 OIFS para citoplasma e o mesmo valor para o núcleo. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando-se teste de ANOVA seguido de comparação de médias (LSD) ao nível de 5% de probabilidade através do software Statistix 9®.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Tanto a leptina quanto o ObRb foram identificados no núcleo e citoplasma dos OIFP e OIFS das fêmeas de ambos os tratamentos. Porém, em leitoas mais velhas, porém ainda em período pré-púbere, a marcação foi observada somente no citoplasma (MOREIRA et al.,c2013), sugerindo que embora leitoas mais jovens possam apresentar presença de leptina e ObRb no núcleo, a medida em que ocorre o desenvolvimento das fêmeas e a aproximação da puberdade, a leptina e seu receptor permanecem apenas no citoplasma.

A intensidade de marcação do citoplasma em OIFP das fêmeas suplementadas a marcação de leptina e ObRb apresentou menor intensidade que em oócitos semelhantes nas fêmeas do grupo controle ( $P<0,05$ ) (Tabela 1). Porém, não houve





diferença na imunomarcção de leptina e ObRb no núcleo de OIFP e OIFS, nem no citoplasma de OIFS ( $P > 0,05$ ).

Tabela 1. Intensidade da imunomarcção para leptina e seu receptor (ObRb) no citoplasma e no núcleo de oócitos de fêmeas suínas pré-púberes do grupo controle e do grupo com adição de ômega-3 na dieta.

	Grupos	n	OIFP		n	OIFS	
			Citoplasma	Núcleo		Citoplasma	Núcleo
Leptina	Controle	59	115,1 ± 2,1 <sup>a</sup>	125,4 ± 1,9	46	135,4 ± 2,5	132,5 ± 2,5
	Ômega-3	51	123,4 ± 2,8 <sup>b</sup>	127,2 ± 3,2	44	139,6 ± 2,7	136,8 ± 2,6
ObRb	Controle	50	146,9 ± 3,6 <sup>x</sup>	125,3 ± 4,4	42	164,1 ± 3,6	128,1 ± 3,2
	Ômega-3	46	157,8 ± 3,6 <sup>y</sup>	129,4 ± 3,2	33	168,4 ± 4,7	130,1 ± 4,4

<sup>a,b</sup> Média ± EPM com expoentes diferentes entre os tratamentos na coluna ( $P < 0,05$ )

<sup>x,y</sup> Média ± EPM com expoentes diferentes entre os tratamentos na coluna ( $P < 0,05$ )

Como a concentração de leptina nos ovários de fêmeas suínas aumenta na medida em que ocorre o desenvolvimento dos folículos (GREGORASZCZUK et al., 2007), a diferença observada após a inclusão do suplemento contendo ômega-3 na dieta não se manteve nos folículos secundários, de forma que a suplementação não foi capaz de interferir na concentração local de leptina e ObRb em folículos mais desenvolvidos. Embora já relatado um incremento no desempenho reprodutivo de fêmeas suínas após a suplementação com ômega-3, atribuído a efeitos positivos sobre o número de folículos e qualidade oocitária (SMITS et al., 2011), no presente estudo, com uso de fêmeas recém-desmamadas, a inclusão do suplemento foi



associada a uma menor imunomarcção para leptina e seu receptor no citoplasma de OIFP, o que pode influenciar negativamente no seu desenvolvimento ooóitário.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Fêmeas suplementadas com ômega-3 apresentaram menor intensidade para leptina e seu receptor (ObRb) nos oóitos de fólculos primordiais/primários.

## **REFERÊNCIAS**

MOREIRA, F.; CORCINI, C.D.; MONDADORI, R.G. Leptin and mitogen-activated protein kinase (MAPK) in oocytes of sows and gilts. *Animal Reproduction Science*, v.139, p. 89-94, 2013.

MOREIRA, F.; GHELLER, S.M.M.; MONDADORI, R.G. Presence of leptin and its receptor in the hypothalamus: uterus and ovaries of swine females culled with distinct ovarian statuses and parities. *Reproduction in Domestic Animals*, v.49, p. 1074–1078, 2014.

PENZ JR, A.M.; BRUNO, D.; SILVA, G. Interação nutrição-reprodução em suínos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.37, p. 183-194, 2009.

QIAN, H.; BARB, C.R.; COMPTON, M.M. Leptin mRNA expression and serum leptin concentrations as influenced by age, weight, and estradiol in pigs. *Domestic Animal Endocrinology*, v.16, p. 135–143, 1999.

SILVA, R.C.; BÁO, S.N.; JIVAGO, J.L.P.R.; LUCCI, C.M. Ultrastructural characterization of porcine oocytes and adjacent follicular cells during follicle development: lipid component evolution. *Theriogenology*, v.76, p. 1647–1657, 2011.

SMITS, R.J.; LUXFORD, B.G.; MITCHELL, M.; NOTTLE, M.B. Sow litter size is increased in the subsequent parity when lactating sows are fed diets containing n-3 fatty acids from fish oil. *Journal of Animal Science*, v.89, p. 2731-2738, 2011.

GREGORASZCZUK, E.L.; PTAK, A.; WOJCIECHOWICZ, T.; NOWAK, K. Action of IGF-I on expression of the long form of the leptin receptor (ObRb) in the pre pubertal period and throughout the estrous cycle in the mature pig ovary. *Journal of Reproduction and Development*, v.53, p. 289–295, 2007.

