

A restrição alimentar na gestação altera o status antioxidante cerebral em ratas mães e sua prole

Mariana Scortegagna Crestani¹, Cristiane Matté^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS

²Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, ICBS, UFRGS

Introdução: A restrição alimentar é considerada um fator protetor em modelos experimentais adultos, aumentando a expectativa de vida e freando o desenvolvimento de diversas doenças associadas ao envelhecimento (Lopez-Lluch et al., 2006; Mercken et al., 2012). Entretanto, quando aplicada no período gestacional, essa intervenção pode exercer papel negativo, visto que mudanças ambientais durante a vida intra-uterina podem afetar o desenvolvimento cerebral e promover reprogramação epigenômica (Pankevich et al., 2010). Já foi demonstrado que a exposição pré-natal à privação de nutrientes seguida de plenitude pós-natal promove adaptação metabólica negativa (Schulz et al., 2010), diante disso, esse trabalho analisou os efeitos metabólicos da restrição alimentar gestacional de 40% em ratas prenhes e seus filhotes recém nascidos, sobre parâmetros de homeostase redox.

Resultados:

Métodos: Ratas Wistar adultas prenhes foram divididas em dois grupos: controle e restrição (40% de restrição alimentar), mães e filhotes foram eutanasiados por decapitação no dia do parto. Amostras de cerebelo e córtex cerebral total foram utilizadas para análises bioquímicas:

Espécies reativas	-Oxidação do DCFH (LeBel et al., 1992) -MitoSOX® e DAF-FM®	Parâmetros de dano	-MDA (Andrade et al., 2004) -TBARS (Yagi, 1988) -Carbonilas (Reznick e Packer, 1994)
Antioxidantes enzimáticos	-SOD (Misra e Fridovich, 1972) -CAT (Aebi, 1984) -GPx (Wendel, 1981) -Grx (Holmgren e Aslund, 1995)	Antioxidantes não-enzimáticos	-GSH (Browne e Armstrong, 1998) -TRAP (Evelson et al., 2001) -TAR (Lissi et al., 1995) -Vitamina C (Andrade et al., 2004)

Esse projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFRGS) sob o nº 25447.

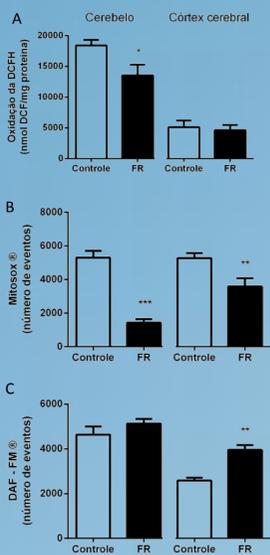


Fig. 1. Efeito da restrição alimentar (food restriction - FR) gestacional sobre a oxidação da 2'-diclorofluoresceína (DCFH) (A), níveis de superóxido mitocondrial (B), e óxido nítrico (C) no cerebelo e córtex cerebral das mães. Resultados expressos em média ± E.P.; n=4-8. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 (teste t de Student).

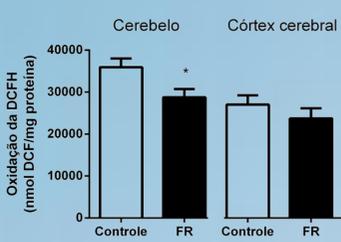


Fig. 2. Efeito da restrição alimentar (FR) gestacional sobre a oxidação da 2'-diclorofluoresceína (DCFH) no cerebelo e córtex cerebral das mães. Resultados expressos em média ± E.P.; n=6-8. *p<0,05 (teste t de Student).

Discussão e conclusão:

- Os resultados evidenciaram desequilíbrio na homeostase redox. A restrição alimentar no período gestacional apresentou efeitos negativos nas defesas antioxidantes das ratas e, mais pronunciadamente, dos filhotes, provavelmente pela vulnerabilidade do encéfalo em desenvolvimento.
- Uma significativa modulação das enzimas antioxidantes foi demonstrada pelo aumento da atividade da SOD associado à diminuição do conteúdo de superóxido mitocondrial. A diminuição das atividades das enzimas CAT e GPx, que eliminam H₂O₂ associadas ao provável aumento na produção de H₂O₂ indicada pelo aumento da atividade da SOD e diminuição do conteúdo de superóxido mitocondrial apontam desequilíbrio antioxidante, entretanto, não foram encontradas quaisquer alterações relativas ao dano oxidativo a lipídios e proteínas.
- Em relação às defesas antioxidantes não-enzimáticas, os filhotes foram afetados negativamente, enquanto as mães apresentaram adaptação.
- Utilizando metodologia semelhante (restrição alimentar de 40%), Agale et al. (2010) descreveram diminuição do potencial antioxidante total tanto nas mães quanto nos filhotes, resultados que concordam em parte com os obtidos no presente trabalho. Antonow-Schlorke et al. (2011) relatam perturbações na arquitetura da zona subventricular fetal (importante área proliferativa, contendo células neurais progenitoras), decorrente da má nutrição materna no início da gravidez em mamíferos, mais um dos efeitos negativos da restrição alimentar gestacional sobre o encéfalo.
- Esses resultados são um ponto de partida para esclarecer o impacto da má nutrição na vida intra-uterina sob parâmetros de homeostase redox, mais estudos são necessários já que os mecanismos de ação relacionados ainda são desconhecidos.

Referências: Aebi H. Meth Enzymol 1984;105:121-126; Agale S. et al. *Brain Dev* 2010;32:123-129; Antonow-Schlorke et al. *Proc Natl Acad USA*. 2011 Feb 15;108(7):3011-6; Browne R W, Armstrong D. *Methods Mol Biol* 1998;108:347-352; Evelson P, ET al.. *Arch Biochem Biophys* 2001;388:261-266; Holmgren A, Aslund F. *Glutaredoxin*. *Meth Enzymol* 1995;252:283-292; LeBel CP, et al. *Chem Res Toxicol* 1992;5:227-231; Lopez-Lluch G, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103:1768-1773; Mercken EM, et al. *Ageing Res Rev* 2012;11:390-398; Pankevich DE, et al. *J Neurosci* 2010;30:16399-16407; Misra H P, Fridovich I. *J Biol Chem* 1972;247:3170-3175; Schulz LC. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:16757-16758; Vinicius Stone, Pauline M. August, Daniela P. Stocher, Caroline P. Klein, Pablo R. G. Couto, Yasmini D. Silva, João P. Sagini, Tiago B. Salomon, Mara S. Benfato, Cristiane Matté. *Food restriction during pregnancy alters brain's antioxidant network in dams and their offspring*, *Free Radical Research* Vol. 50, Iss. 5, 2016; Wendel A. *Meth Enzymol* 1981;77:325-333.

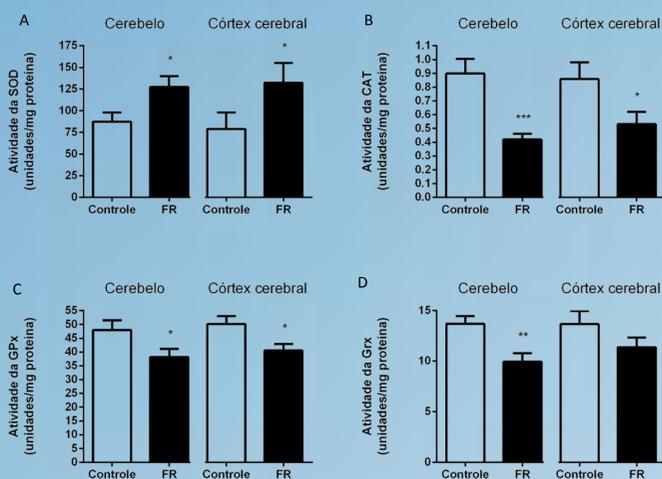


Fig. 3. Efeito da restrição alimentar (FR) gestacional sobre as atividades da superóxido-dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), glutatona-peroxidase (GPx) (C), e glutarredoxina (Grx) (D) no cerebelo e córtex cerebral dos filhotes. Resultados expressos em média ± E.P. n=5-8. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 (teste t de Student).

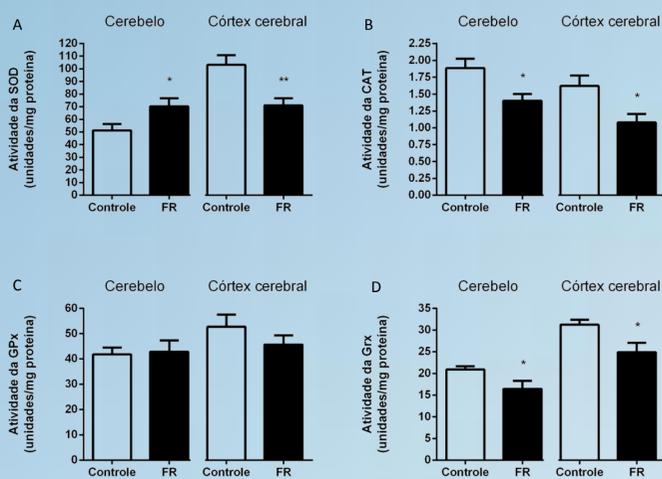


Fig. 4. Efeito da restrição alimentar (FR) gestacional sobre as atividades da superóxido-dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), glutatona-peroxidase (GPx) (C), e glutarredoxina (Grx) (D) no cerebelo e córtex cerebral das mães. Resultados expressos em média ± E.P. n=6-8. *p<0,05; **p<0,01 (teste t de Student).

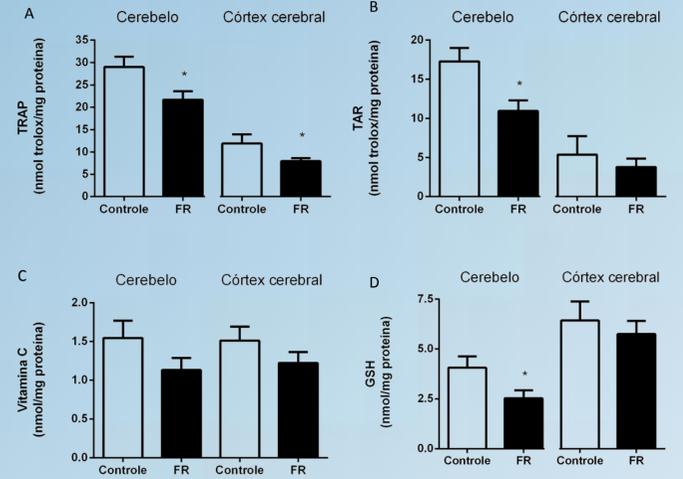


Fig. 5. Efeito da restrição alimentar (FR) gestacional sobre o potencial antioxidante não-enzimático total (TRAP) (A), reatividade antioxidante total (TAR) (B), níveis de vitamina C (C) e conteúdo de glutatona reduzida (GSH) (D) no cerebelo e córtex cerebral dos filhotes. Resultados expressos em média ± E.P. n=6-8. *p<0,05 (teste t de Student).

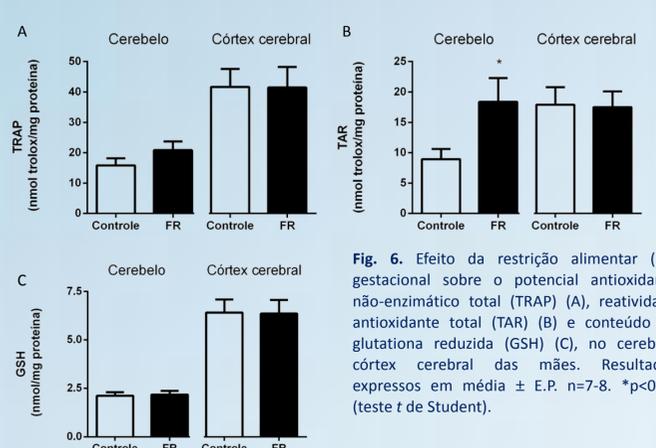


Fig. 6. Efeito da restrição alimentar (FR) gestacional sobre o potencial antioxidante não-enzimático total (TRAP) (A), reatividade antioxidante total (TAR) (B) e conteúdo de glutatona reduzida (GSH) (C), no cerebelo e córtex cerebral das mães. Resultados expressos em média ± E.P. n=7-8. *p<0,05 (teste t de Student).

Os parâmetros de dano oxidativo não foram alterados (dados não mostrados).