

INTRODUÇÃO

- ▶ O estresse oxidativo é definido como o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e de defesas antioxidantes (Halliwell e Gutteridge, 2007).
- ▶ A restrição calórica (CR) é considerada um fator protetor em modelos adultos, aumentando a expectativa de vida e freando o desenvolvimento de uma série de doenças associadas (Lopez-Lluch et al., 2006, Mercken et al., 2012).
- ▶ Embora seja considerada benéfica, a restrição calórica pode exercer papel negativo quando aplicada na fase gestacional (Palou et al., 2012, Martin-Gronert e Ozanne, 2006).
- ▶ Neste trabalho, foi verificado o efeito da restrição calórica gestacional de 40% sobre parâmetros de estresse oxidativo no encéfalo de ratas prenhes e seus filhotes.

MATERIAIS E MÉTODOS

- ▶ Ratas Wistar prenhes foram divididas em dois grupos: Controle e CR (restrição calórica de 40% durante a gestação), mães e filhotes foram eutanasiados por decapitação no dia do parto;
- ▶ Foram avaliados: o **conteúdo de espécies reativas**, detectado pela oxidação da diclorofluoresceína (DCFH) (LeBel, 1992); a **atividade antioxidante enzimática** [superóxido-dismutase (SOD) – Misra, 1972; catalase (CAT) – Aebi, 1984; glutatona-peroxidase (GPx) – Wendel, 1981; glutarredoxina (Grx) – Holmgren, 1995] e **não enzimática** [potencial antioxidante não enzimático total/reactividade antioxidante total – TRAP/TAR – Evelson, 2001; níveis de glutatona reduzida (GSH) – Browne, 1998 e **vitamina C** – Karatepe, 2004].
- ▶ Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFRGS) sob o número 25447.

RESULTADOS

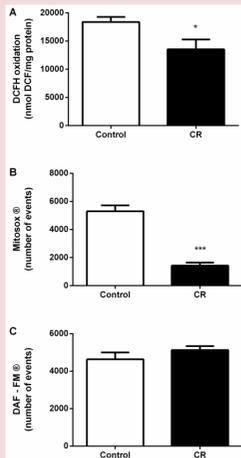


Fig. 1. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre a oxidação da 2'-diclorofluoresceína (DCFH) (A), níveis de superóxido mitocondrial (B), e óxido nítrico (C) no cerebelo dos filhotes. Resultados expressos em média ± E.P.; n=4-8. *p<0,05; ***p<0,001 (teste t de Student).

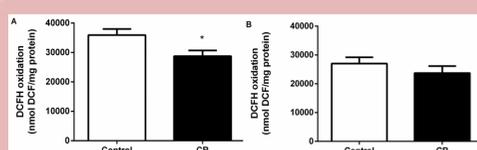


Fig. 3. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre a oxidação da 2'-diclorofluoresceína (DCFH) no cerebelo (A) e córtex cerebral (B) de ratas Wistar prenhes. Resultados expressos em média ± E.P. n=6-8. *p<0,05 (teste t de Student).

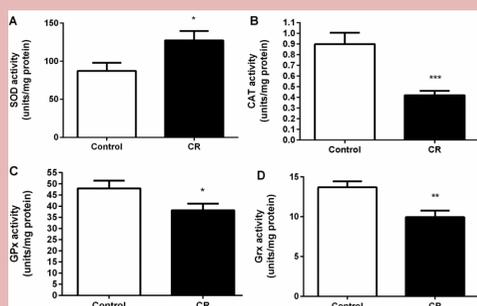


Fig. 4. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre as atividades da superóxido-dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), glutatona-peroxidase (GPx) (C), e glutarredoxina (Grx) (D) no cerebelo das mães. Resultados expressos em média ± E.P. n=5-8. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 (teste t de Student).

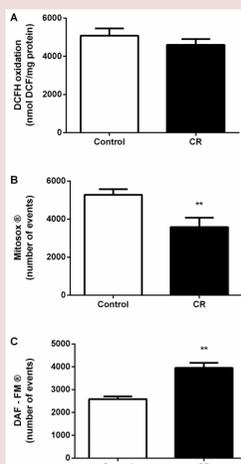


Fig. 2. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre a oxidação da 2'-diclorofluoresceína (DCFH) (A), níveis de superóxido mitocondrial (B), e óxido nítrico (C) no córtex cerebral dos filhotes. Resultados expressos em média ± E.P.; n=4-8. **p<0,01 (teste t de Student).

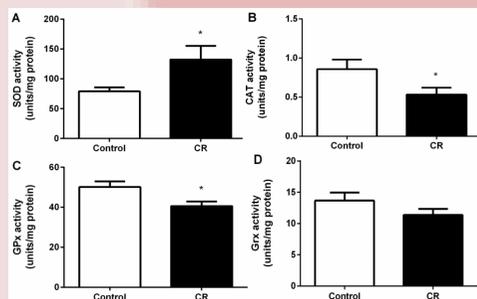


Fig. 5. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre as atividades da superóxido-dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), glutatona-peroxidase (GPx) (C), e glutarredoxina (Grx) (D) no córtex cerebral das mães. Resultados expressos em média ± E.P. n=7-8. *p<0,05 (teste t de Student).

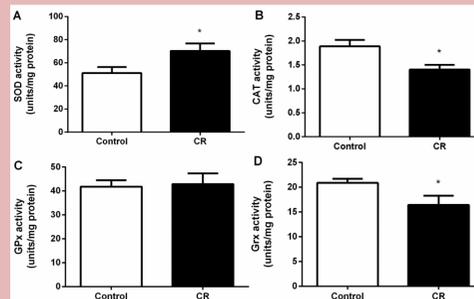


Fig. 6. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre as atividades da superóxido-dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), glutatona-peroxidase (GPx) (C), e glutarredoxina (Grx) (D) no cerebelo das mães. Resultados expressos em média ± E.P. n=7-8. *p<0,05 (teste t de Student).

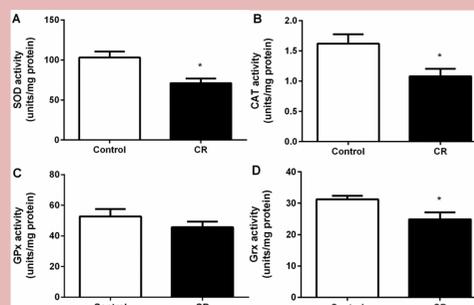


Fig. 7. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre as atividades da superóxido-dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), glutatona-peroxidase (GPx) (C), e glutarredoxina (Grx) (D) no córtex cerebral das mães. Resultados expressos em média ± E.P. n=6-7. *p<0,05 (teste t de Student).

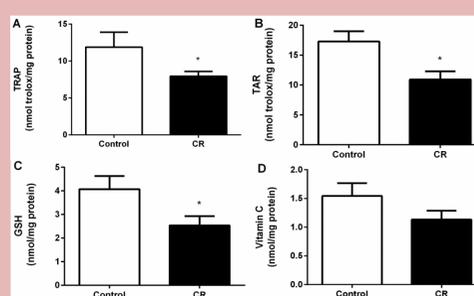


Fig. 8. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre o potencial antioxidante não-enzimático total (TRAP) (A), reatividade antioxidante total (TAR) (B), conteúdo de glutatona reduzida (GSH) (C), e níveis de vitamina C (D) no cerebelo dos filhotes. Resultados expressos em média ± E.P. n=7-8. *p<0,05 (teste t de Student).

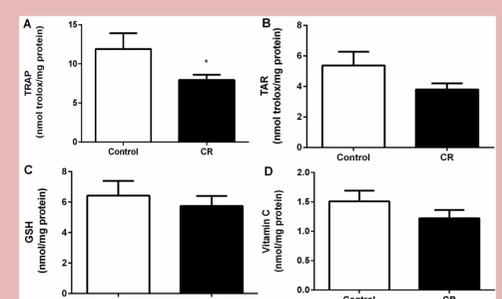


Fig. 9. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre o potencial antioxidante não-enzimático total (TRAP) (A), reatividade antioxidante total (TAR) (B), conteúdo de glutatona reduzida (GSH) (C), e níveis de vitamina C (D) no córtex cerebral dos filhotes. Resultados expressos em média ± E.P. n=6-8. *p<0,05 (teste t de Student).

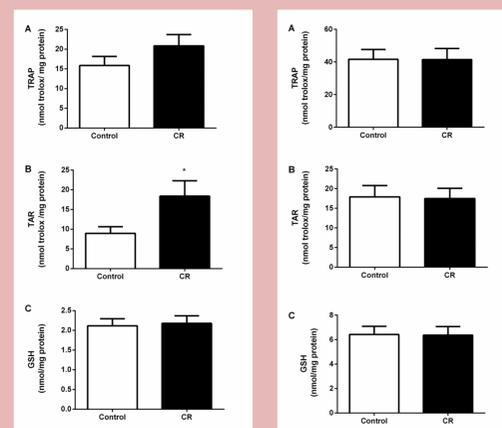


Fig. 10. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre o potencial antioxidante não-enzimático total (TRAP) (A), reatividade antioxidante total (TAR) (B), e conteúdo de glutatona reduzida (GSH) (C) no cerebelo das mães. Resultados expressos em média ± E.P. n=7-8. *p<0,05 (teste t de Student).



Fig. 11. Efeito da restrição calórica (CR) gestacional sobre o potencial antioxidante não-enzimático total (TRAP) (A), reatividade antioxidante total (TAR) (B), e conteúdo de glutatona reduzida (GSH) (C) no córtex cerebral das mães. Resultados expressos em média ± E.P. n=7-8. (teste t de Student).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

- ▶ A restrição calórica parece **afetar negativamente as defesas antioxidantes** de mães e filhotes; com **efeito mais pronunciado nos filhotes**, provavelmente pela vulnerabilidade do **SNC em desenvolvimento**.
- ▶ A **diminuição do conteúdo de O₂^{-•}**, associado ao aumento da atividade da SOD leva a um provável aumento na produção de **peróxido de hidrogênio (H₂O₂)**, entretanto, a oxidação da DCFH está diminuída (ou inalterada).
- ▶ O acúmulo de H₂O₂ associado à **diminuição das atividades da CAT e da GPx** pode levar à formação de radical hidroxil, entretanto, não houve alteração nos parâmetros de dano oxidativo a lipídeos e proteínas (dados não mostrados). O H₂O₂ pode ser eliminado por outras enzimas, como as peroxirredoxinas, não medidas neste estudo.
- ▶ A ausência de alteração nos parâmetros de dano oxidativo também rejeita o aumento da formação de peroxinitrito através da reação entre O₂^{-•} e NO.
- ▶ Embora os resultados encontrados sugiram um **déficit antioxidante**, os **lipídeos e as proteínas foram preservados** do dano oxidativo.
- ▶ Na literatura, há **poucos trabalhos** associando a **restrição calórica gestacional** a parâmetros de **estresse oxidativo**. Os **mecanismos de ação** relacionados ainda são **desconhecidos**.
- ▶ Os mecanismo de ação da restrição calórica em **modelos animais adultos** estão relacionados à ativação de fatores de transcrição como o **Nrf2** (Bocci and Valacchi, 2015), e a via da **PI3K/Akt**, a qual promove fosforilação de componentes da família **FoxO** (Kim et al, 2014), **aumentando a expectativa de vida** (Kim et al., 2015).
- ▶ A restrição calórica também **diminui a temperatura corporal** (Ferguson et al, 2007), refletindo um metabolismo celular diminuído.
- ▶ A restrição calórica ainda afeta a **SIRT1**, promovendo **resistência ao estresse** (Cohen, 2004), e agindo sobre sensores bioenergéticos como o **PGC1-α**, que está relacionado à **transcrição de genes antioxidantes** e melhora da **função mitocondrial** (Lopez-Lluch, 2006).
- ▶ Nossos resultados demonstram um **desequilíbrio na homeostase redox**, **evidenciada pela alteração do status antioxidante de mães submetidas à restrição calórica gestacional de 40% e seus filhotes**. Esses dados sugerem que, apesar de ser uma estratégia para aumentar a expectativa de vida em modelos adultos, a restrição calórica **pode exercer papel negativo quando aplicada na fase gestacional**.

REFERÊNCIAS: AEBI, H. (1984) *Methods Enzymol*, 105, 121-126; BOCCI, V. & VALACCHI, G. (2015) *Front Chem*, 2,3-4; BROWNE, R. W. & ARMSTRONG, D. (1998) *Methods Mol Biol*, 108, 347-52; COHEN, H. Y. et al. (2004) *Science*, 305, 390-2; EVELSON, P. et al. (2001) *Arch Biochem Biophys*, 388, 261-6; FERGUSON, M. et al. (2007). *Mech Ageing Dev*, 128, 539-45; HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. M. C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*; HOLMGREN, A. & ASLUND, F. (1995) *Methods Enzymol*, 252, 283-92; KARATEPE M. (2004) *LC GC*. 22: 326-65; KIM, D. H. et al. (2014) *Age (Dordr)*, 36, 9679; KIM, D.H. et al. (2015) *Biogerontology*, 16, 1-14; LEBEL, C. P. et al. (1992) *Chem Res Toxicol*, 5, 227-31; LOPEZ-LLUCH, G. et al. (2006) *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 1768-73; MARTIN-GRONERT, M. S. & OZANNE, S. E. (2006) *Biochem Soc Trans*, 34, 779-82; MERCKEN, E. M. et al. (2012) *Ageing Res Rev*, 11, 390-8; MISRA, H. P. & FRIDOVICH, I. (1972) *J Biol Chem*, 247, 3170-5; PALOU, M. et al. (2012). *J Nutr Biochem*, 23, 1627-39; WENDEL, A. (1981) *Methods Enzymol*, 77, 325-33.