

EFEITOS OXIDATIVOS DE UMA RESTRIÇÃO PROTEICA CRÔNICA NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS MACHOS JOVENS.

Érica de Lima Santana¹; Claudia Jacques Lagranha²

¹Estudante do Curso de Licenciatura em Biologia- CAV – UFPE;

²Docente/pesquisador do Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte – CAV – UFPE. E-mail: lagranha@hotmail.com

Sumário: O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da desnutrição perinatal sobre as possíveis alterações no balanço oxidativo no tronco encefálico de ratos jovens (30 dias). Foi utilizado o modelo de redução da proteína para 8% tanto no período de gestação como lactação. Aos 21 dias de vida, a prole foi desmamada e passaram a receber dieta Labina. Aos 30 dias de vida, os animais macho foram sacrificados e o tronco encefálico foi retirado para as análises bioquímicas: Níveis de peroxidação lipídica através da metodologia de MDA, além da quantificação das atividades antioxidante das enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione-S-transferase (GST), como também a avaliação dos níveis de glutathione reduzida (GSH). Nossos resultados mostraram que a desnutrição induz um aumento significativo nos níveis de peroxidação lipídica e atividade da SOD, mas também diminuição da atividade das enzimas antioxidantes CAT e GST, além da redução da GSH e da razão GSH/GSSG. Nossos dados sugerem que a desnutrição perinatal modula negativamente o balanço oxidativo no tronco encefálico por redução do sistema de defesas antioxidantes enzimático e não enzimático. Essas alterações podem estar relacionadas com uma redução da funcionalidade do tecido, que por sua vez pode estar associado a doenças cardiovasculares.

Palavras-chave: estado redox; estresse oxidativo; tronco encefálico

INTRODUÇÃO

Evidências epidemiológicas têm mostrado que deficiência nutricional no período crítico do desenvolvimento (pré e pós natal) aumentam o risco para desenvolver algumas doenças na vida adulta, entre elas a hipertensão arterial [1-4]. Má nutrição proteica no período crítico do desenvolvimento pode afetar desde processos biossintéticos do cérebro[5], como também fosforilação de proteínas que constituem as membranas neuronais[6], conexões neurais e sistemas relacionados a neurotransmissão[7], estudos mostram também que o consumo de uma dieta deficiente em proteínas durante o período pré-natal[8] ou durante o período pós-natal[9, 10] induz alterações nas funções cardiovasculares na prole, podendo causar disfunção cardíaca e mesmo hipertensão arterial na idade adulta. Apesar destes estudos mostrando que a desnutrição induz disfunções cardíacas ou mesmo hipertensão arterial na idade adulta, pouco se conhece a respeito dos mecanismos centrais e periféricos associados com a etiologia destas doenças assim como alterações em organelas chaves para a manutenção das atividades celulares [11].

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar* provenientes da colônia de criação do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco. Após o nascimento, no primeiro dia de vida, todas as ninhadas foram normatizadas para nove neonatos por mãe. Para obtenção do grupo desnutrido (hiponutridos), a mãe passou a receber dieta com

8% de caseína, enquanto a mãe do grupo controle recebeu dieta com 17% de caseína. Aos 21 dias de vida, a prole foi desmamada e passaram a receber dieta Labina. Aos 30 dias de vida os ratos foram sacrificados por decapitação em guilhotina e em seguida foi realizada a coleta do tecido, onde os mesmos foram armazenados imediatamente a -20°C . Preparo do homogeneizado do tecido coletado para utilização nas técnicas bioquímicas: Os tecidos coletados foram homogeneizados em tampão de extração (Tris base 50 mM, pH 7,4; EDTA 1mM; ortovanadato de sódio 1 mM; PMSF 2 mM, Nonidet P-40 Substitute à 1%). Após a homogeneização as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm, a 4°C , por 10 minutos e os sobrenadantes serão submetidos à quantificação de proteína. Dosagem de proteína: A concentração de proteína da suspensão de cada tecido foi determinada pelo método de Bradford (Bradford, 1976). Para a dosagem de TBARS foi utilizada a técnica colorimétrica de Buege e Aust (1978). A atividade da superóxido dismutase foi avaliada através do método da inibição da auto-oxidação da adrenalina como descrita em Misra e Fridovich, (1972), A atividade da catalase foi avaliada segundo o protocolo de Halliwell e Gutteridge (1989). A atividade da Glutathione-S-Transferase (GST) foi realizada segundo Habig, (1974). Para a quantificação da GSH e da razão GSH/GSSG foi realizado o método descrito por Hissin e Hilf (1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliarmos o nível de peroxidação lipídica, através da quantificação do nível de MDA (Malondialdeído), foi observado um aumento significativo no grupo desnutrido (3.8 ± 0.7) em relação ao grupo Controle (2.1942 ± 0.4764) (Figura1).

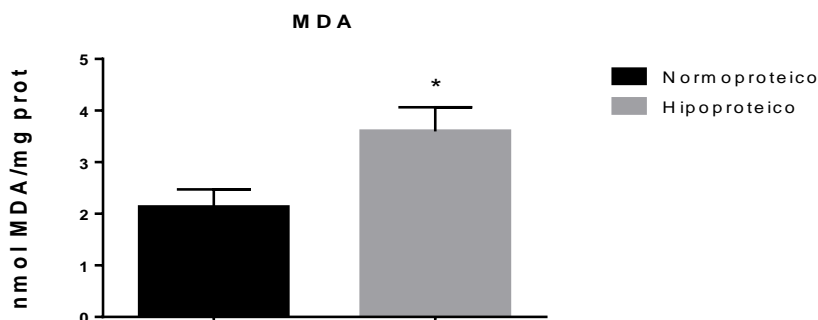


Figura 1. Níveis de MDA (Malondealdeído) no tronco encefálico de ratos controle (N= 9) e desnutrido (N= 9). Valores expressos em nmol/mg de proteína. Dados expressos como média \pm erro padrão (*p= 0,042).

A peroxidação lipídica é responsável por alterar negativamente a estrutura e fluidez das membranas plasmáticas. Nossos resultados mostram um aumento de MDA dos ratos desnutridos. Estas alterações podem estar relacionadas com uma menor seletividade no transporte iônico e ou na sinalização transmembrana, o que prejudica o transporte celular (DELL'ANNA *et al.*, 2007).

Avaliação da atividade das enzimas antioxidantes:

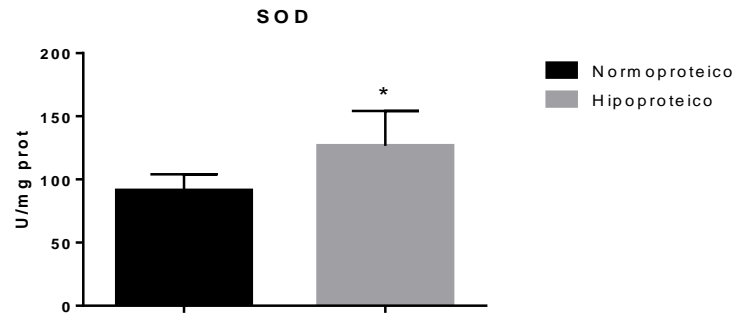


Figura 2. Atividade da Superóxido Dismutase no tronco encefálico de ratos controle (N= 7) e desnutrido (N= 6). Valores expressos em U/mg de proteína. Dados expressos como média \pm erro padrão (*p=0,033).

A enzima antioxidante Superóxido dismutase é a primeira enzima na linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênio. A SOD é responsável por converter ânion superóxido em peróxido de hidrogênio que é convertido pela catalase e glutathione peroxidase em água e oxigênio. Com a desnutrição observamos que houve um aumento significativa na atividade da SOD no grupo experimental. Esta condição pode resultar numa maior quantidade de peróxido de hidrogênio formado, esse por sua vez poderia atuar como o agente oxidante responsável pela oxidação de lipídeos de membrana, proteínas e/ou DNA (HALLIWELL e CHIRICO, 1993; HALLIWELL, 1994; KANNER, 1994).

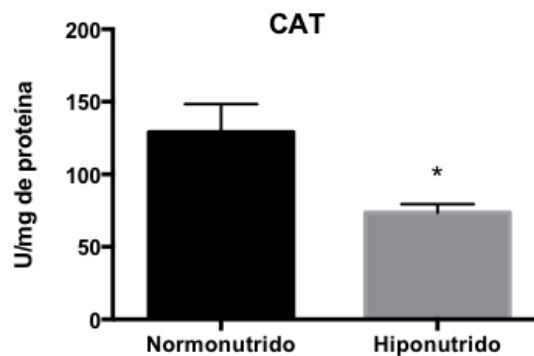


Figura 5. Atividade da Catalase no tronco encefálico de ratos controle (N=9) e desnutrido(N=9). Valores expressos em μ mol/min/mg de proteína. Dados expressos como média \pm erro padrão (*p=0,024).

A atividade da catalase estava diminuída de forma significativa no grupo desnutrido. A diminuição da atividade da catalase no tronco encefálico pode estar associada a uma menor resistência ao peróxido de hidrogênio e a toxicidade com maior dano cerebral, sendo este último podendo estar associado a indução da hipertensão neurogênica (BREZNICEANU, 2007).

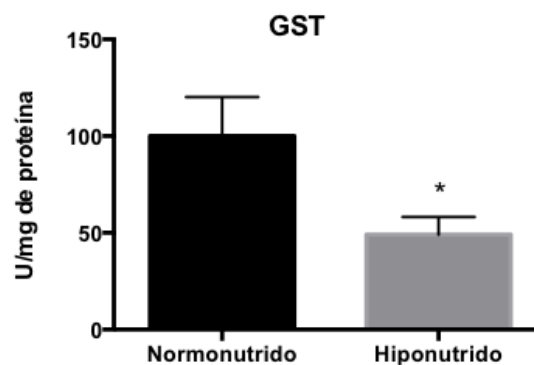


Figura 5. Atividade da Glutathiona-S-Transferase no tronco encefálico de ratos controle (N=8) e desnutrido(N=7). Valores expressos em U/mg de proteína. Dados expressos como média \pm erro padrão. (*p=0,029)

A enzima glutathiona-s-transferase está envolvida no metabolismo de xenobióticos e tem como principal função a detoxificação de agentes tóxicos endógenos e exógenos (FERREIRA, 2013). O reparo de macromoléculas oxidadas por espécies reativas de oxigênio, a regeneração de proteínas S-tioladas e a biossíntese de metabólitos fisiologicamente importantes, são outras das funções da GST (ARMSTRONG, 1997; SHEEHAN *et al.*, 2001). Nossos resultados mostram uma diminuição significativa na atividade antioxidante da GST no grupo desnutrido comparado ao grupo controle. A literatura mostra que a diminuição da atividade desta enzima pode levar a um aumento das espécies reativas de oxigênio nos cérebros, e que este aumento pode proporcionar uma resposta fisiopatológica nas células, como diminuição da função (CRESSEY *et al.*, 2002; BLAITHIN *et al.*, 2010; ISAAC *et al.*, 2014).

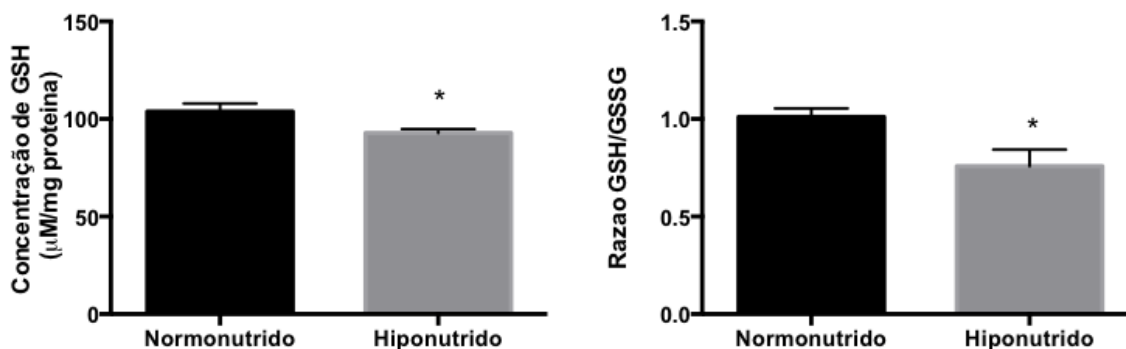


Figura 6. Níveis da Glutathiona reduzida e do estado redox no tronco encefálico de ratos controle (N=8) e desnutrido(N=7). Valores expressos em µM/mg de proteína. Dados expressos como média \pm erro padrão. (*p=0,034; p=0,029).

Na continuação das análises, fomos verificar se as defesas antioxidantes não enzimáticas estavam também afetados pela desnutrição proteica no período perinatal. De forma semelhante ao que foi visto em animais hiponutridos com 100 dias de vida, observamos uma redução tanto da concentração de glutathiona reduzida, o principal tiol intracelular, como também do estado redox nos animais hiponutridos.

CONCLUSÕES

De acordo com o que foi verificado nos resultados entendemos que o processo de combate as espécies reativas de oxigênio foi afetado de forma significativa pela desnutrição proteica perinatal e que devido a esse defeito no sistema de remoção das espécies reativas de oxigênio, ocorre a indução de estresse oxidativo, que pode ser o agente inicializador das patologias crônicas induzida pela disfunção do controle neural da pressão arterial sistêmica.

AGRADECIMENTOS

Aos meus colegas de laboratório. E a FACEPE e CNPQ pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AZAHARA I. RUPÉREZ, ANGEL GIL, CONCEPCIÓN M. AGUILERA. Genetics of Oxidative Stress in Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*. v.15, p.3118, 2014.
- DING, WAI W CHEUNG, ROBERT H MAK. Impact of obesity on kidney function and blood pressure in children. *World J Nephrol*. v. 4, p. 223, 2015.
- MORGANE

P.J, MOKLER D.J, GALLER J.R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 26, p.471, 2002.