

A prática de exercício físico materno aliado à suplementação com naringenina altera o estado redox e a atividade do sistema transportador de elétrons mitocondrial em encéfalo de ratos Wistar

Pablo Ribeiro Gonçalves Couto¹; Cristiane Matté^{1,2}

¹ Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS

² Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde



paz no plural



Apoio financeiro:

Introdução

A gestação é um evento revelador e transformador para a mulher, que exige muitas precauções e cuidados, uma vez que as condições de exposição materna (nutricionais, ambientais, medicamentosas) afetam a programação metabólica do feto, condicionando-o para um ambiente pós-natal tal qual o de exposição na gestação (Hales e Barker, 2001). Recentemente nosso grupo de pesquisa demonstrou que o exercício físico e a dieta materna alteram a programação metabólica no encéfalo da prole de ratos Wistar (Marcelino *et al.*, 2013; Stone *et al.*, 2016), sendo o exercício físico causador de adaptações positivas nas defesas antioxidantes. No entanto, a literatura demonstra que a suplementação de antioxidantes na dieta, quando aliada ao exercício físico, pode impedir a adaptação metabólica induzida por espécies reativas (Casuso *et al.*, 2014A). Dessa forma o objetivo desse trabalho foi avaliar o estado redox e a atividade do sistema transportador de elétrons mitocondrial no encéfalo da prole, em resposta à natação materna aliada ou não à suplementação com naringenina durante a gestação.

Materiais e Métodos

Ratos Wistar adultos (90 dias) foram divididos em quatro grupos: (1) sedentário, (2) sedentário suplementado com naringenina, (3) exercício de natação, e (4) exercício de natação suplementado com naringenina. Os grupos 3 e 4 praticaram 30 minutos de natação, 5 dias/semana, durante 4 semanas, iniciando uma semana antes do acasalamento. A naringenina (50 mg/Kg) foi administrada via gavagem, antes do exercício, após o acasalamento e durante toda a gestação.

A prole foi eutanasiada no 7º dia de vida e as estruturas encefálicas foram imediatamente dissecadas para realização dos seguintes ensaios bioquímicos: concentração de malondialdeído (MDA) (Andrade *et al.*, 2014), oxidação da 2'7'-diclorofluoresceína (DCFH) (LeBel *et al.*, 1992), medida de superóxido mitocondrial por citometria de fluxo através da sonda Mitosox, conteúdo de glutatona reduzida (GSH) (Browne e Armstrong, 1998), atividade da glutatona-peroxidase (GPx) (Wendel, 1981), atividade da superóxido-dismutase (SOD) (Misra e Fridovich, 1972) e sistema transportador de elétrons mitocondrial, complexos II e II-III (Fischer *et al.*, 1985), complexo IV (Rustin *et al.*, 1994) e atividade da succinato-desidrogenase (SDH) (Fischer *et al.*, 1985).

A análise dos dados foi realizada por ANOVA de duas vias. Todas as análises foram seguidas por pós-teste de Tukey, considerando os dados paramétricos. Os dados foram apresentados como média por \pm SEM e foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – UFRGS (CEUA/UFRGS), sob o N° 26542.

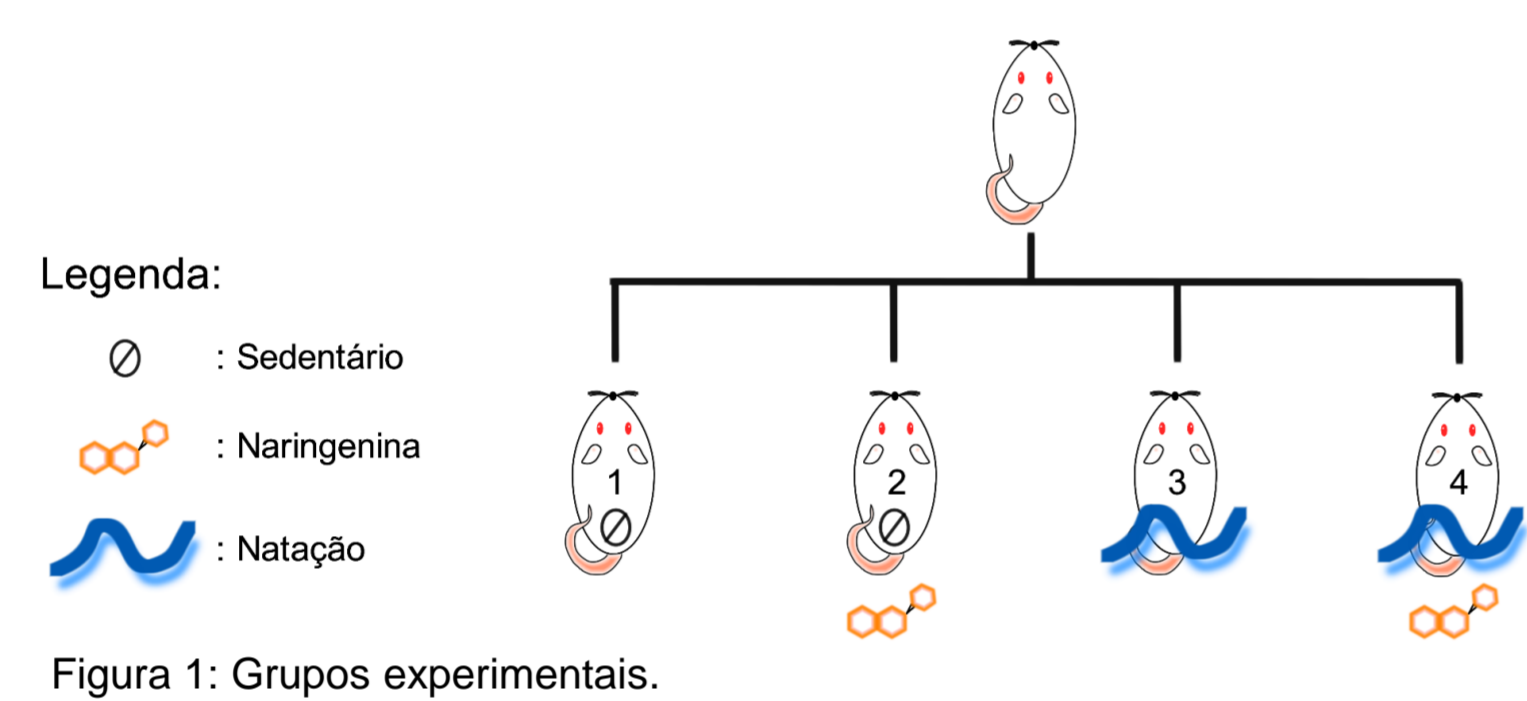


Figura 1: Grupos experimentais.

Resultados

Cerebelo

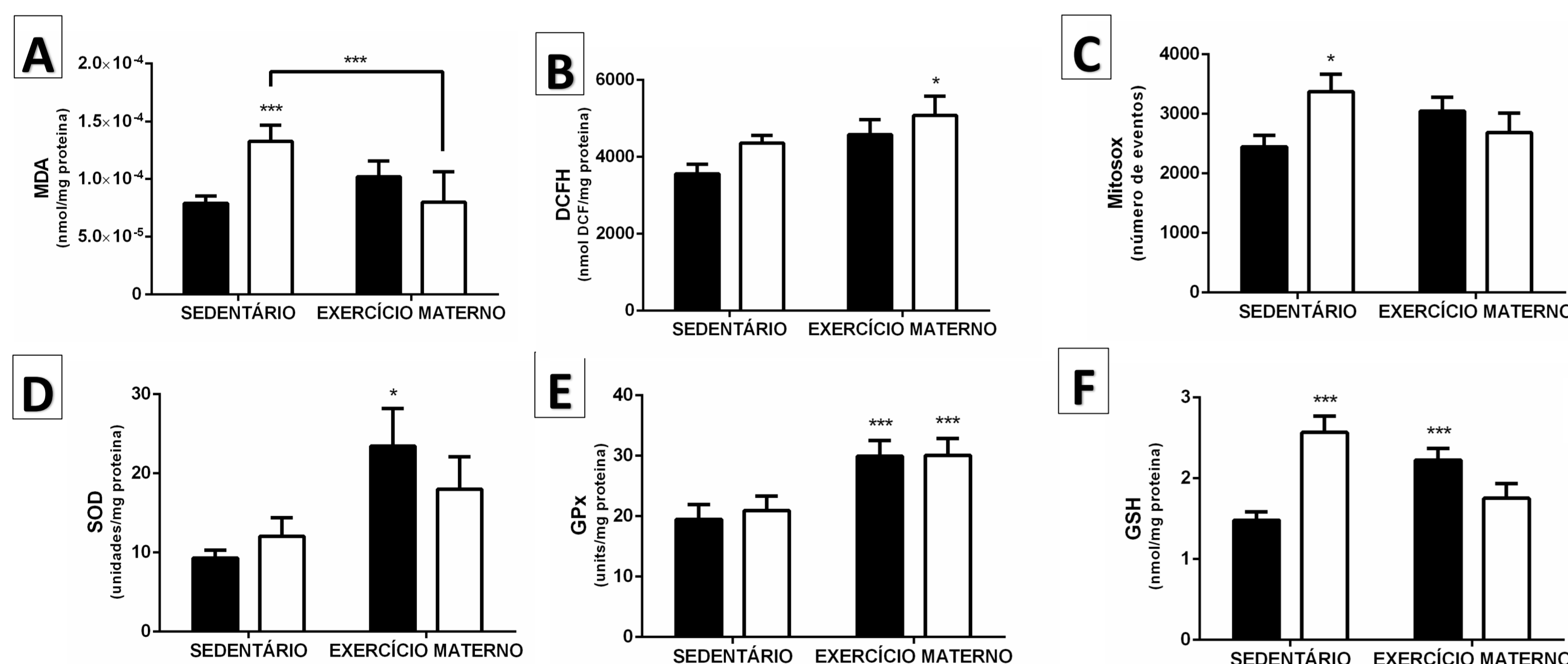


Figura 2: Efeito da suplementação materna de naringenina e/ou natação durante a gestação sobre: (A) concentração de malondialdeído (MDA), (B) oxidação da 2'7'-diclorofluoresceína (DCFH), (C) níveis de superóxido mitocondrial (Mitosox), (D) atividade da superóxido-dismutase (SOD), (E) atividade da glutatona-peroxidase (GPx), (F) níveis de glutatona reduzida (GSH), (G) atividade da catalase (CAT) no cerebelo da prole. Os resultados estão expressos como média + DP para n=6-7. Os ensaios foram realizados em triplicatas. Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Tukey. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$

Córtex Parietal

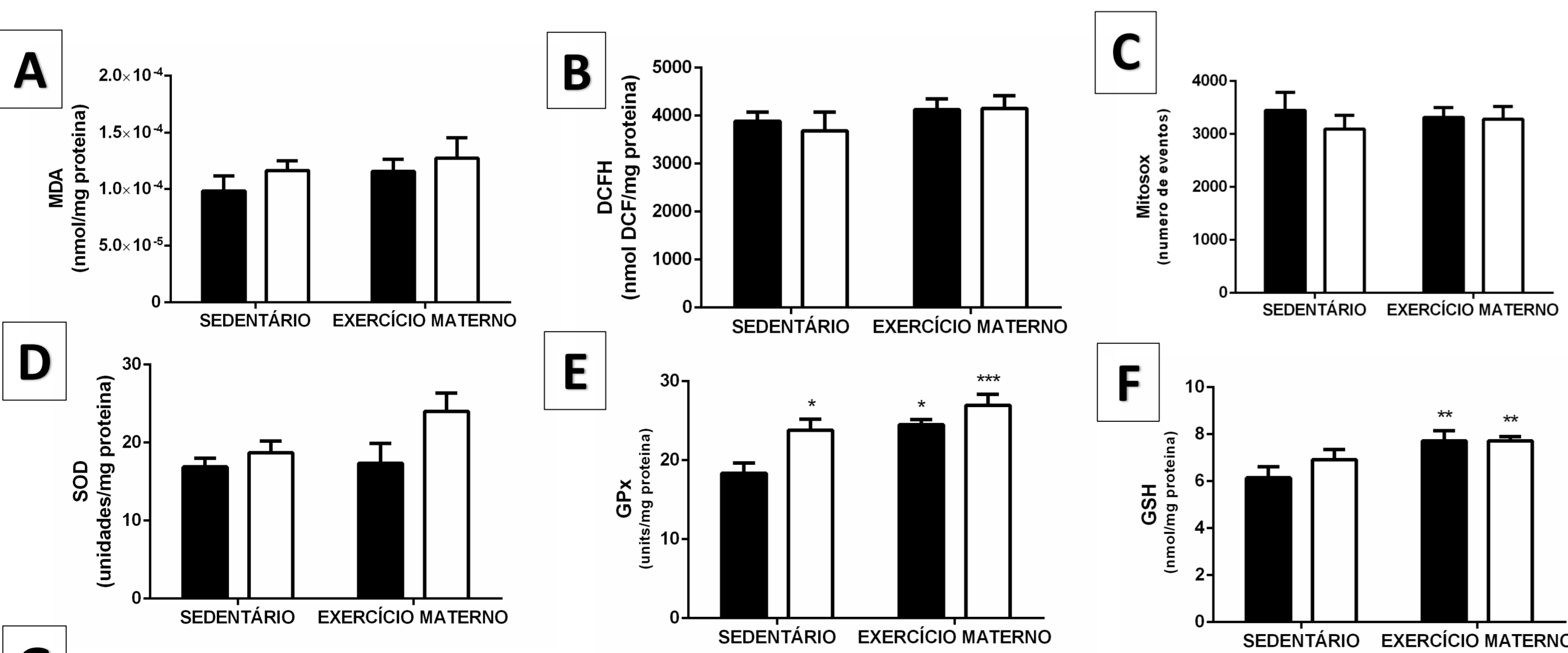


Figura 3: Efeito da suplementação materna de naringenina e/ou natação durante a gestação sobre: (A) concentração de malondialdeído (MDA), (B) oxidação da 2'7'-diclorofluoresceína (DCFH), (C) níveis de superóxido mitocondrial (Mitosox), (D) atividade da superóxido-dismutase (SOD), (E) atividade da glutatona-peroxidase (GPx), (F) níveis de glutatona reduzida (GSH), (G) atividade da catalase (CAT) no córtex parietal da prole. Os resultados estão expressos como média + DP para n=6-7. Os ensaios foram realizados em triplicatas. Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Tukey. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$

SISTEMA TRANSPORTADOR DE ELÉTRONS MITOCONDRIAL

Cerebelo

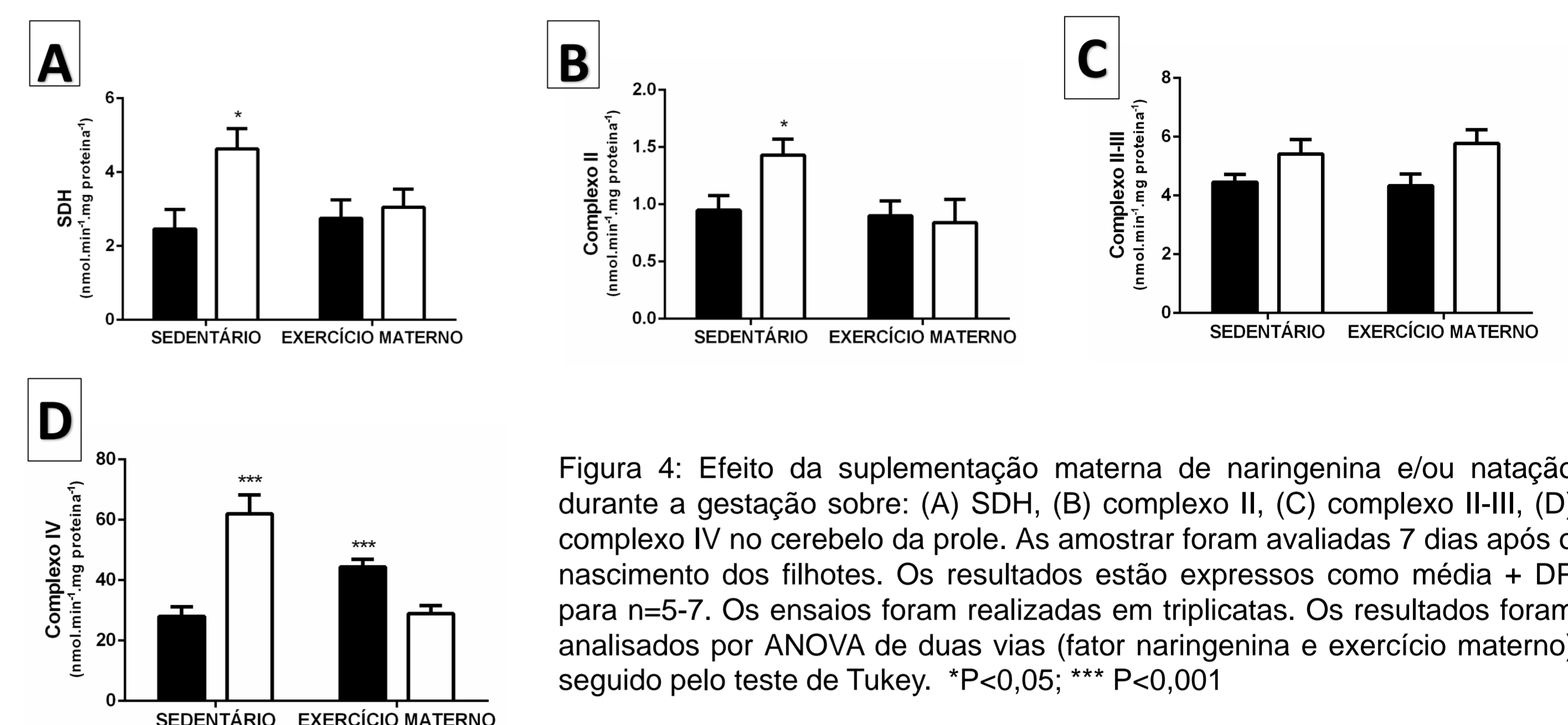


Figura 4: Efeito da suplementação materna de naringenina e/ou natação durante a gestação sobre: (A) SDH, (B) complexo II, (C) complexo II-III, (D) complexo IV no cerebelo da prole. As amostras foram avaliadas 7 dias após o nascimento dos filhotes. Os resultados estão expressos como média + DP para n=5-7. Os ensaios foram realizados em triplicatas. Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias (fator naringenina e exercício materno) seguido pelo teste de Tukey. * $P < 0,05$; *** $P < 0,001$

Córtex Parietal

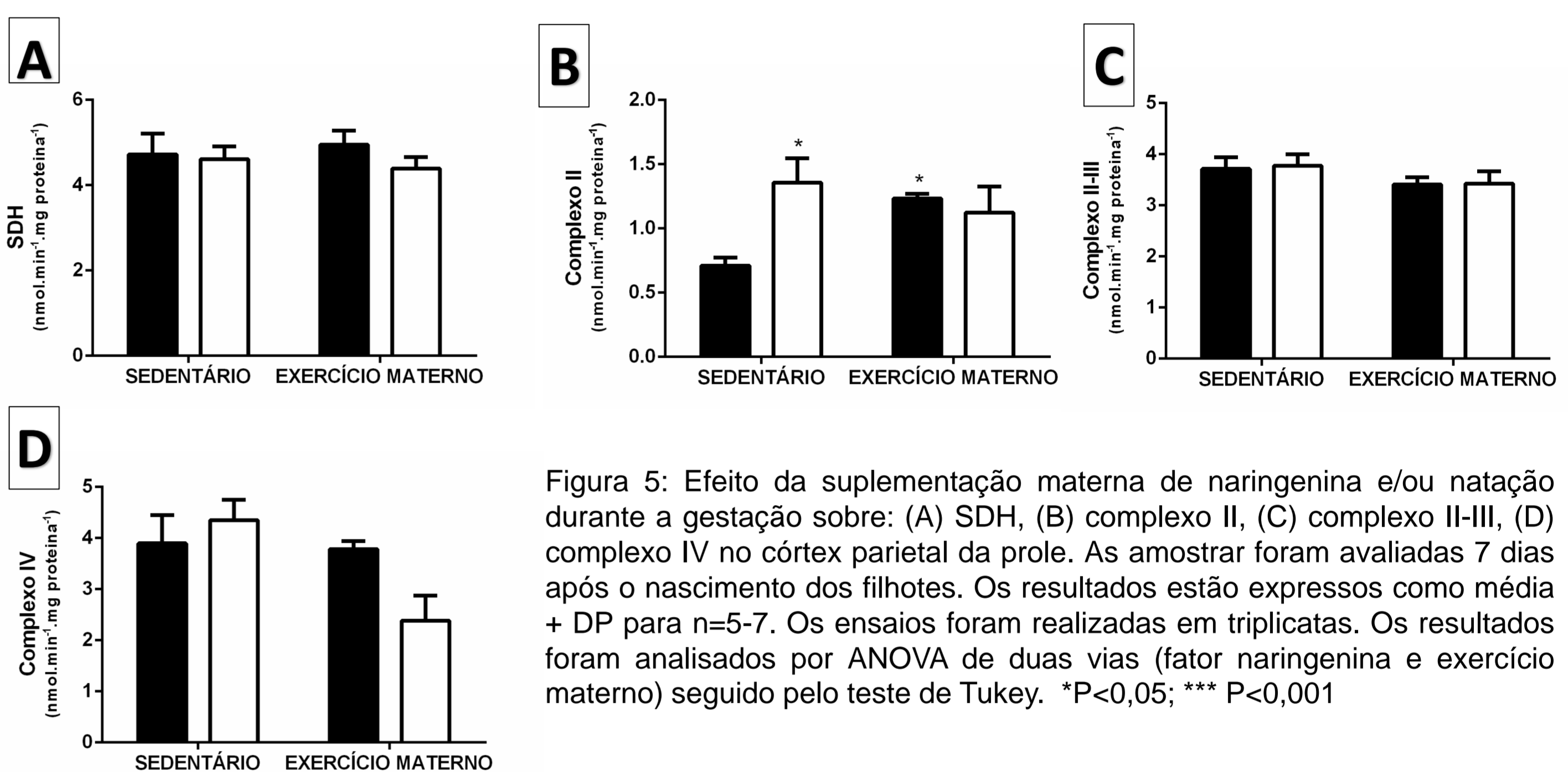


Figura 5: Efeito da suplementação materna de naringenina e/ou natação durante a gestação sobre: (A) SDH, (B) complexo II, (C) complexo II-III, (D) complexo IV no córtex parietal da prole. As amostras foram avaliadas 7 dias após o nascimento dos filhotes. Os resultados estão expressos como média + DP para n=5-7. Os ensaios foram realizados em triplicatas. Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias (fator naringenina e exercício materno) seguido pelo teste de Tukey. * $P < 0,05$; *** $P < 0,001$

Hipocampo

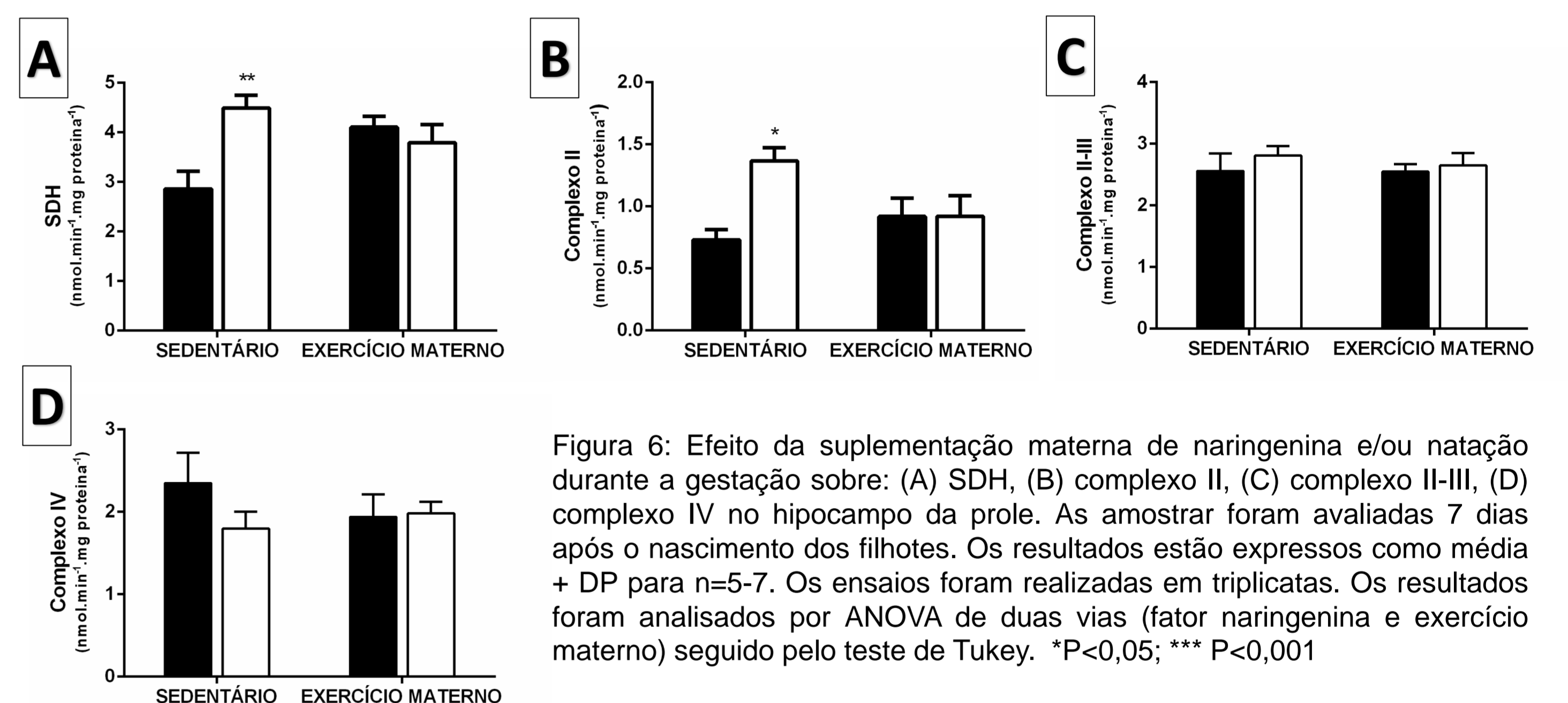


Figura 6: Efeito da suplementação materna de naringenina e/ou natação durante a gestação sobre: (A) SDH, (B) complexo II, (C) complexo II-III, (D) complexo IV no hipocampo da prole. As amostras foram avaliadas 7 dias após o nascimento dos filhotes. Os resultados estão expressos como média + DP para n=5-7. Os ensaios foram realizados em triplicatas. Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias (fator naringenina e exercício materno) seguido pelo teste de Tukey. * $P < 0,05$; *** $P < 0,001$

Discussão e Conclusão

As intervenções gestacionais de exercício físico e suplementação com naringenina, quando isoladas, causaram um aumento na atividade das defesas antioxidantes e do sistema transportador de elétrons mitocondrial no encéfalo da prole. O efeito do exercício pode ser explicado pela ação já demonstrada do exercício físico na indução da ativação do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) e coativador-1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PGC-1 α) (Zhang *et al.*, 2012). Dados da literatura mostram que a suplementação com naringenina também ativa o PGC-1 α (Galéra *et al.*, 2015). Esses marcadores estão relacionados com vias indutoras de biogênese mitocondrial, aumento de defesas antioxidantes e atividade do sistema transportador de elétrons mitocondrial.

Quando as intervenções foram aliadas, alguns efeitos isolados foram abolidos, o que corrobora com achados recentes de que dietas ricas em substâncias antioxidantes e/ou suplementação por polifenóis interferem na adaptação metabólica causada pelo exercício físico (Gomez-Cabrera *et al.*, 2008; Casuso *et al.*, 2014B).

Considerando que ambas as estratégias antioxidantes, tanto de dieta rica em polifenóis quanto prática de exercício físico causam alterações importantes no metabolismo da prole, é necessário muita cautela ao indicar intervenções durante o período gestacional.

Agradecimento: Agradeço a Professora orientadora Dra. Cristiane Matté, a doutoranda Msc. Pauline Maciel August e ao grupo de pesquisa do Laboratório de Programação Metabólica pelo empenho e dedicação na arte em perseverar sobre o avanço científico.