



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**

ELENILSON MAXIMINO BERNARDO

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE O BALANÇO
OXIDATIVO NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS JOVENS SUBMETIDOS A
RESTRIÇÃO PROTEICA MATERNA**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
CURSO DE BACHARELADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA
NÚCLEO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E CIÊNCIAS DO ESPORTE

ELENILSON MAXIMINO BERNARDO

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE O BALANÇO
OXIDATIVO NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS JOVENS SUBMETIDOS A
RESTRICÇÃO PROTEICA MATERNA**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Educação Física.

Orientador: Cláudia Jacques Lagranha
Coorientador: Anderson Apolonio da Silva Pedroza

Vitória de Santo Antão

2019

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Giane da Paz Ferreira Silva, CRB-4/977

B523e Bernardo, Elenilson Maximino.

Efeito do treinamento físico moderado sobre o balanço oxidativo no tronco encefálico de ratos jovens submetidos a restrição proteica materna / Elenilson Maximino Bernardo. - Vitória de Santo Antão, 2019.

46 folhas: il. fig.

Orientadora: Cláudia Jacques Lagranha

Coorientador: Anderson Apolonio da Silva Pedroza

TCC (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Educação Física, 2019.

Inclui referências e anexo.

1. Treinamento físico. 2. Exercício físico. 3. Estresse oxidativo.

I. Lagranha, Cláudia Jacques (Orientadora). II. Pedroza, Anderson Apolonio da Silva. (Coorientador). III. Título.

796.4 (23. ed.)

BIBCAV/UFPE-284/2019

ELENILSON MAXIMINO BERNARDO

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE O BALANÇO
OXIDATIVO NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS JOVENS SUBMETIDOS A
RESTRIÇÃO PROTEICA MATERNA**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Educação Física.

Aprovado em: 02/12/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^a. Mariana Pinheiro Fernandes (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^º. Ms. Anderson Apolonio da Silva Pedroza (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^º. Ms. Glauber Rudá Feitoza Braz (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho ao meu Avô João Heleno Miximino (*in Memoriam*), e aos meus pais por todo apoio dado.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus por ter me dado a vida, saúde e me abençoado todos esses anos.

À minha família: minha mãe Luzia Heleno Maximino pela fé e sempre acreditar em mim, meu exemplo de humildade e pelo seu amor e carinho; ao meu pai Edilson Ventura Bernardo pelos conselhos e ensinamentos para vida; a minha irmã Elizangela Maximino Bernardo, pelo companheirismo e por estar sempre ao meu lado: As minhas avós materna e paterna Alzira Celestina Maximino e Josefa Severina Bernardo respectivamente pelo amor oferecido e pela paciência em todos esses anos; Especialmente ao meu AVÔ João Heleno Maximino (*in memoriam*) que me criou durante a minha adolescência, um exemplo de pessoa justa e honesta; a minha tia Ivonete Celestina Maximino de Lima pelo acolhimento e afeto; ao meu tio José Ferrei de Lima que foi o divisor de águas na minha vida com seus ensinamentos empíricos para vida e ter me ajudado a ingressar na universidade.

A galera do “AP201” Danilo Henrique Dario Borba, Rafael Silva, Weveny Bryan e Willams Ernades pelos anos de resenha e momento de descontração. À turma 2016.1 pelas amizades construídas ao longo desses 4 anos. Ao Professor Marcelus Brito de Almeida por sempre me incentivar nas minhas conquistas.

Aos amigos integrantes do Laboratório de Bioquímica geral, molecular e do Exercício. Em especial, a coorientador, Prof^o. Ms. ANDERSON PEDROZA que por meio da sua inteligência e da paciência eu consegui chegar até aqui, a minha Orientadora Prof^a. Dr^a. Claudia Lagranha a quem tenho como referência de dedicação ao trabalho, humildade, honestidade e justiça A minha Prof^a. Dr^a Mariana Pinheiro pela simpatia (apesar de ser rubro negra), brincadeiras e pelo primeiro contato com a bioquímica.

Enfim, agradeço a todos vocês por me proporcionarem esses momentos de alegria. Vocês fazem do meu processo evolutivo emocional, espiritual, humano e material. Gratidão a todos!

*"Pois que se uniu a mim, eu o livrarei; e o protegerei, pois
conhece o meu nome."*

Salmo 90:10

RESUMO

Estudos epidemiológicos e experimentais mostram a influência de insultos ambientais durante as fases críticas do desenvolvimento (gestação, lactação e primeira infância) no surgimento de doenças crônicas na vida adulta. Um dos mecanismos para o surgimento de tais comorbidades é estresse oxidativo, que é caracterizado pelo desbalanço crônico entre os agentes antioxidantes e pró-oxidantes. O estresse oxidativo é prejudicial aos tecidos orgânicos e cada tecido tem um grau de sensibilidade deferente e o mais sensível de todos é o encéfalo devido as suas características quimiofisiológicas sendo um atrativo para as ERO's. O tronco encefálico é responsável pelo controle central autonômico cardiovascular, tônus simpático, pressão arterial, frequência cardíaca, entre outros. O exercício físico vem sendo uma das estratégias adotadas pela OMS para combater/prevenir a morbidade e mortalidade prematuras pelas doenças cardiometabólicas. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do exercício físico moderado sobre o balanço oxidativo no tronco encefálico de ratos jovens submetidos a limitação proteica materna. Foram utilizadas ratas *Wistar* prenhes divididas em dois grupos de acordo com a dieta: um grupo com dieta normoproteica (NP; 17% caseína) e hipoproteica (8% caseína) durante a gestação e lactação. Após o desmame os filhotes machos de cada grupo foram separados e alimentados com dieta comercial (LABINA®) e aos 30 dias de vida foram submetidos a um protocolo de exercício físico moderado em esteira ergométrica adaptada para ratos. Aos 60 dias de vida os animais foram sacrificados e coletado o tronco encefálico para análises bioquímicas: Biomarcadores do estresse oxidativo MDA e carbonilas; atividade das enzimas antioxidantes: Superóxido Dismutase (SOD), Catalases (CAT), Glutathiona-S-Transferase (GST); níveis de Glutathiona reduzida e oxidada (GSH/GSSG) e níveis de Sulfidrila (-SH). A desnutrição induziu o aumento nos biomarcadores de estresse oxidativo MDA e Carbonilas, diminuição da atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT e menores níveis de grupamentos tióis (-SH). Apesar dos efeitos negativos causados pela desnutrição, o treinamento físico moderado foi capaz de modular positivamente o estresse oxidativo no tronco encefálico devido ao aumento das atividades antioxidante enzimática e não enzimática e diminuição dos biomarcadores de estresse oxidativo.

Palavras Chave: Desnutrição. Estresse oxidativo. Tronco encefálico. Exercício físico.

ABSTRACT

Epidemiological and experimental studies show the influence of environmental insults during the critical development stages (pregnancy, lactation and early childhood) in the onset of chronic diseases in adulthood. The mechanism for the auserent of such comorbidities is the oxidative stress, which is characterized by chronic imbalance between antioxidant and pro-oxidant agents. Oxidative stress is detrimental to organic tissues, each tissue has a diferent sensitivity and the most sensitive of all is the brain due to its chemophysiological characteristics being an attractive to ROS. The brainstem is responsible for cardiovascular autonomic central control, sympathetic tone, blood pressure, heart rate, among others. Physical exercise has been one of the strategies adopted in an attempt to combat / prevent premature loss of life due to cardiometabolic diseases. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effect of moderate physical exercise on the brainstem oxidative balance of young rats submitted to maternal protein restriction. Pregnant *Wistar* rats were divided into two groups according to diet: one group with normoprotein diet (NP; 17% casein) and another with hypoprotein diet (8% casein) during pregnancy and lactation. After weaning (age), the male pups of each group were separated and fed whith a commercial diet and at 30 days of age were submitted to a moderate exercise protocol on a treadmill adapted for rats. At 60 days of age the animals were sacrificed and the brainstem collected for biochemical analysis MDA and carbonyls coutent; activity of the antioxidant enzymes Superoxide Dismutase (SOD), Catalases (CAT) and Glutathione S-Transferase (GST), reduced Glutathione and oxidized Glutathione (GSH / GSSG) and Sulfhydryl groups (-SH) levels. Malnutrition induced an increase in MDA and Carbonyl coutent,both oxidative stress biomarkers, decreased activity of SOD and CAT antioxidant enzymes and lower levels of groupings (-SH). Despite the negative effects caused by malnutrition, moderate physical training was able to reverse oxidative stress in the brain stem due to increased enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities.

Keywords: Malnutrition. Oxidative stress. Brainstem. Physical exercise.

LISTA DE ABREVIÇÕES

ACSM	Colégio Americano de Medicina do esporte
AVC	Acidente Vascular Encefálico
CAT	Catalase
CTE	Cadeia Transportadora de Elétrons
CVLM	Medula Caudal Ventrolateral
DCD	Doenças Crônicas Degenerativas
DOHaD	Origem desenvolvimentista da saúde e da doença
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTNB	5,5'-dithiobis (2 nitrobenzoic acid)
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EF	Exercício Físico
EFM	Exercício Físico Moderado
ERO	Espécies Reativa de Oxigênio
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione Reduzida
GSSG	Glutathione Oxidada
GST	Glutathione -S Transferase
H	Hiponutrido
HS	Hiposedentário
HT	Hipotreinado
H ₂ O ₂	Peroxido de Hidrogênio
ILM	Medula Intermediolateral
MDA	Malonaldeído
MO	Medula Oblonga
N	Normonutrido
NA	Núcleo Âmbiguo
NS	Normosedentário
NT	Normotreinado
NTS	Núcleo do Trado Solitário
OMS	Organização Mundial de Saúde
O ₂ [•]	Ânion Superóxido

ONU	Organização das Nações Unidas
PCD	Período Crítico do Desenvolvimento
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Espécies Reativas ao Acido Tiobarbitúrico
TCA	Acido Tricloroacético
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	DESNUTRIÇÃO E AS DOENÇAS CRÔNICAS DEGENERATIVAS	15
2.2	DESNUTRIÇÃO, ESTRESSE OXITATIVO E SNC NA PATOGENESE DAS DCD'S	17
2.3	TRONCO ENCEFÁLCO, CONTROLE AUTONIMICO CARDIOVASCULAR E ESTRESSE OXIDATIVO	21
2.4	ESTILO DE VIDA, DOENÇAS CRÔNICAS DEGENERATIVAS E EXERCÍCIO FÍSICO..	24
3	OBEJTIVOS	26
3.1	GERAL	26
3.2	ESPECÍFICOS:.....	26
4	METODOLOGIA DO TRABALHO	27
4.1	ANIMAIS E FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	27
4.2	PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO.....	27
4.3	DESENHO EXPERIMENTAL	28
4.4	COLETA DOS TECIDOS	28
5	ANÁLISE BIOQUÍMICA	28
5.1	PREPARO DO HOMOGENEIZADO DO TECIDO COLETADO PARA UTILIZAÇÃO NAS TÉCNICAS BIOQUÍMICAS	28
5.2	QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS DE PEROXIDAÇÃO LIPIDICA	29
5.3	QUANTIFICAÇÃO DO CONTEÚDO DE CARBONILAS	29
5.4	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA CITRATO SINTASE.....	29
5.5	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD)	30
5.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA CATALASE (CAT).....	30
5.7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA GUTATIONA S-TRANFERASE (GST)...	30
5.8	QUANTIFICAÇÃO DO BALANÇO REDOX (GSH/GSSG).....	31
5.9	QUANTIFICAÇÃO DE GRUPAMENTOS TIÓIS TOTAIS (SULFIDRILAS).....	31

6	ANALISE ESTATÍSTICA	32
7	RESULTADOS.....	33
8	DISCUSSÃO	35
9	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS.....	38
	ANEXO I.....	46

1 INTRODUÇÃO

O termo desnutrição refere-se à deficiência e/ou desequilíbrio da ingestão calórica e nutricional de um indivíduo (WHO, 2016). A desnutrição pode ser caracterizada como uma doença clínico-social multifatorial cujos fatores estão relacionados ao estado de saúde e condição socioeconômica (CARVALHO, 2005).

Segundo o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF, 2017), no mundo 5 em cada 6 crianças com menos de 2 de idade não são alimentadas adequadamente, o que priva da energia e dos nutrientes suficientes que necessitam no momento mais crítico do desenvolvimento. Embora o UNICEF afirme que o Brasil em 2014 ficou fora do mapa da fome da ONU, esses dados não são homogêneos para todas as regiões do país. O Nordeste é a região que apresenta a maior taxa de privação alimentar por domicílio, cerca de 38,1% das famílias nordestinas sofrem algum tipo de restrição alimentar (UNICEF, 2017).

Evidências epidemiológicas e experimentais mostram que uma privação nutricional no período crítico do desenvolvimento (PCD) afeta diversos tecidos, trazendo efeitos insalubres sobre o desenvolvimento de vários tecidos e conseqüentemente do indivíduo, aumentando os riscos de desenvolvimento de doenças crônicas (DC's) na vida adulta (BARKER *et al.*, 1989; PASSOS; RAMOS; MOURA, 2000; BARKER, 2004; BARKER *et al.*, 2005; WU *et al.*, 2013; VAISERMAN, 2017). O período crítico do desenvolvimento, diz respeito as fases mais delicadas e importantes do desenvolvimento do organismo, conhecido como gestação, lactação e primeira infância (LUCAS; DISEASE, 1991; HANSON *et al.*, 2011). As altas taxas de proliferação e multiplicação celular correspondentes das organogênese, torna esses períodos extremamente sensíveis e vulneráveis a quaisquer alterações do meio. Segundo Lucas; Disease (1991) qualquer tipo de estresse/insulto tais como: fumo (REEVES *et al.*, 2008), álcool (YANG *et al.*, 2001), desnutrição (HALES, 1997), proveniente do ambiente pode causar alterações tanto químicas quanto fisiológicas, a longo prazo, que torna o organismo susceptível ao desenvolvimento de morbidades cardiovasculares.

Durante o período de privação nutricional, o feto interage dinamicamente com o meio a fim de adquirir vantagens de sobrevivência para o futuro (LUCAS; DISEASE, 1991; LUCAS, FEWTRELL; COLE, 1999). A essa Capacidade interativa dar-se o nome de plasticidade fenotípica, que corresponde a capacidade de um genótipo mudar seu fenótipo diante de diferentes insultos/estímulos ambientais (HANSON *et al.*, 2008; HANSON *et al.*, 2011). Uma das hipóteses proposta na tentativa de entender essas alterações nas fases iniciais

da vida e suas relações com doenças cardiometabólicas em idades posteriores, é a resposta adaptativa preditiva (GODFREY; GLUCKMAN; HANSON, 2010). O modelo das respostas adaptativas preditivas sugere que o organismo em desenvolvimento tem a capacidade de prever o ambiente ao qual será inserido, utilizando insultos endógenos (alterações hormonais) e ambientais (nutrição) (BARKER; OSMOND, 1988; BARKER *et al.*, 1989; BARKER, 2004; BARKER *et al.*, 2005; SILVEIRA *et al.*, 2007). Entretanto, se essa previsão for equivocada entre o ambiente previsto e o real, as alterações metabólicas afim de reverter essa “programação” torna o organismo susceptível ao surgimento/progressão de DC’s (GLUCKMAN; HANSON, 2004).

Um dos possíveis mecanismo envolvidos para tais respostas é o estresse oxidativo. O estresse oxidativo é um quadro caracterizados pelo desequilíbrio prolongado entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO’s) e/ou sua remoção pelo sistema antioxidante, que são formados por componentes enzimáticos e não enzimáticos (FERREIRA, *et al.*, 2016; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

O tecido mais vulnerável as ERO’s é o sistema nervoso central (SNC) podendo comprometer funções vitais do organismo (MANSEGO *et al.*, 2011; CERETTA *et al.*, 2012). Evidencias científicas com humanos e modelos experimentais mostram que a exposição do SNC ao estresse oxidativo é um dos principais mecanismos das neuropatologias Alzheimer (SWOMLEY; BUTTERFIELD, 2015), Epilepsia (PEARSON *et al.*, 2015), Esquizofrenia (RAJASEKARAN *et al.*, 2015), Esclerose lateral amiotrófica (PALOMO; MANFREDI, 2015). Em adição, a literatura vem mostrando que em função das ERO’s a hipertensão pode ter origem central, uma vez que o tronco encefálico (TE) tem circuitos neurais responsáveis pelo controle da pressão arterial (KISHI *et al.*, 2004; PETERSON, SHARMA; DAVISSON, 2006; NISHIHARA *et al.*, 2012; CHAN, CHAN; SIGNALING, 2014).

Em resposta para tal situação, a OMS inclui como estratégia uma alimentação adequada e mudanças no estilo de vida, as quais devem ser priorizadas desde o início da vida para diminuir/retardar os riscos das patologias supracitadas. Complementando as mudanças do estilo de vida, a prática regular de exercício físico vem sendo bem aceita como estratégia de prevenção as DC’s e promoção a saúde (BOUSQUET-SANTOS *et al.*, 2006; DAS; HORTON, 2016). Em 2018, a OMS lançou um novo plano de ação sobre atividade física e saúde para 2018-30, esse plano tem como objetivo aumentar a prática de atividade física cerca de 15% até 2030, para diminuição da prevalência de mortalidade prematura por DC’s (OPAS/WHO, 2018).

A literatura aponta o exercício físico moderado (EFM) como um potencializador das atividades dos componentes antioxidantes, que por sua vez atenua os efeitos do estresse oxidativo (GIMENES, C *et al.*, 2015; RANJBAR, NAZEM; NAZARI, 2016; SALLAM; LAHER, 2016). Evidências experimentais mostram que o EFM além de melhorar o metabolismo cardíaco, consumo de oxigênio, angiogênese, aumenta a biogênese mitocondrial e diminui a pressão arterial (GIMENES, C. *et al.*, 2015). Apesar de estudos virem mostrando os efeitos benéficos do EFM, ainda não são totalmente conhecidas as respostas no TE de ratos jovens acerca das modulações centrais cardiovasculares frente ao insulto nutricional no período crítico do desenvolvimento.

Considerando o TE como o principal tecido relacionado ao controle central cardiovascular e sensível ao estresse oxidativo, nossa hipótese é que o exercício físico moderado atenuará as alterações negativas do balanço oxidativo no tronco encefálico de ratos jovens submetidos a restrição proteica materna. Frente essas problemáticas que podem alterar o estado de saúde, o presente trabalho buscar elucidar o funcionamento do tecido supramencionado na perspectiva do estresse oxidativo frente a atividade do sistema antioxidante enzimático e não enzimático mediante a desnutrição proteica materna e treinamento aeróbio moderado.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Desnutrição e as doenças crônicas degenerativas

No contexto histórico, o ponto chave referente a estudos relacionando as DC's surgiram na década de 1930, em um levantamento epidemiológico de Kermack, Mckendrick e Mckinlay (1934), onde foi constatado aumento da prevalência de mortes por doenças cardiovasculares em adultos nos países da Escócia, Inglaterra, País de Gales e Suécia . Curiosamente, esses dados não coincidem nos períodos de mortalidade de cada país, porem o ambiente em que esses indivíduos nasceram teve uma alteração ambiental em comum, que foi a escassez alimentar, durante e pós-guerra, pandemias, entre outros. Diante a isso, eles concluíram que a influência do ambiente nos primeiros dias de vida é importante para a qualidade saúde no decorrer da vida.

Décadas posteriores de Ravelli; Stein; Susser (1976) em um estudo longitudinal avaliaram homens nascidos durante o fim da segunda guerra mundial (1944-1945) em um evento chamado “fome holandesa” e relacionaram a desnutrição no período pré-natal e pós-natal com o baixo peso ao nascer, aumento da mortalidade infantil e aumento da incidência de obesidade. Dados semelhantes foram encontrados por Forsdahl (1977), onde houve correlação entre cardiopatias em diferente regiões da Noruega entre 1964-1967 com mortes nos primeiros anos de vida, 70 anos anteriores. Frente a isso, Forsdahl postulou que a vulnerabilidade econômica poderia levar a desnutrição na infância e predispor o organismo a doenças cardíacas coronariana ao longo da vida. Fortalecendo essa ideia, Wadsworth *et al.* (1985) em um estudo de coorte com 5.362 indivíduos onde foi observado que a baixa condição social e o baixo peso ao nascer estava relacionado com aumento de pressão arterial em homens e mulheres.

Referente às respostas evolutivas para tais acontecimento, Neel (1962) propôs que a seleção natural relacionados a períodos de escassez alimentar intermitente selecionou genes no decorrer de várias gerações que codificassem um estado metabólico econômico quem daria vantagens a sobrevivência, denominada de hipótese do “genótipo poupador”. Porém, a partir dessa hipótese outros pesquisadores tentando explicar algum mecanismo biológico relacionado a desnutrição pré e pós-natal com o surgimento de doenças crônico metabólicas desenvolveram a hipótese do “fenótipo poupador” (HALES; BARKER, 1992). Essa hipótese define que durante as fases do desenvolvimento fetal há “janelas” sensíveis a insultos adversos proveniente do ambiente, exemplo desequilíbrio alimentar. Quando há um déficit

alimentar, é potencializada uma resposta adaptativa que direciona o aporte nutricional para os órgãos vitais como, cérebro, rins, em detrimento de outros, como as vísceras, conferido alterações persistentes no crescimento e função desses tecidos. Essas adaptações são tentativas de aumentar as chances de sobrevivência, porém levam a um metabolismo pós-natal alterado com propósito de aumentar a sobrevivência pós-natal em condições nutricionais intermitente (BARKER *et al.*, 1989).

A hipótese do fenótipo poupador forneceu subsídios para vários de pesquisadores entre o final do século XX e início do século XXI aprofundarem o conhecimento com estudos experimentais sobre as condições ambientais insalubres ao desenvolvimento durante as fases iniciais da vida relacionadas a predisposição de comorbidades metabólicas como, obesidade, resistência à insulina, diabetes tipo II, hipertensão, cardiopatias, entre outras (SNOECK *et al.*, 1990; FRANKEL *et al.*, 1996; PETRY *et al.*, 1997; SHEPHERD *et al.*, 1997; ERIKSSON *et al.*, 2000).

Em ensaio experimental de Snoeck (1990) em modelo animal com ratos com dieta pobre em proteína (8%) no PCD foi visto tanto uma redução no tamanho das ilhotas pancreáticas quanto disfunção das células β dessas ilhotas. Isso foi explicado pela vascularização do pâncreas ser reduzida em cerca de 50% nos ratos desnutridos comparados com os controles sendo uma possível explicação fisiometabólica para a baixa tolerância a glicose e diabetes tipo II (SNOECK *et al.*, 1990). Já no estudo de PETRY *et al.* (1997) como modelo de desnutrição pré-natal semelhante, porém, com um segundo insulto nutricional altamente palatável (cafeteria) na vida adulta. Como resultado, foi observado que animais desnutridos nessas fases apresentaram maiores valores pressóricos quando comparados ao grupo e animais controle e quando alimentados com dieta palatável o aumento pressórico foi ainda maior e ainda apresentaram e ainda apresentaram resistência à insulina (PETRY *et al.*, 1997). Isso sugere que o ambiente nutricional pós-natal desequilibrado tem influência no estado de saúde na fase adulta.

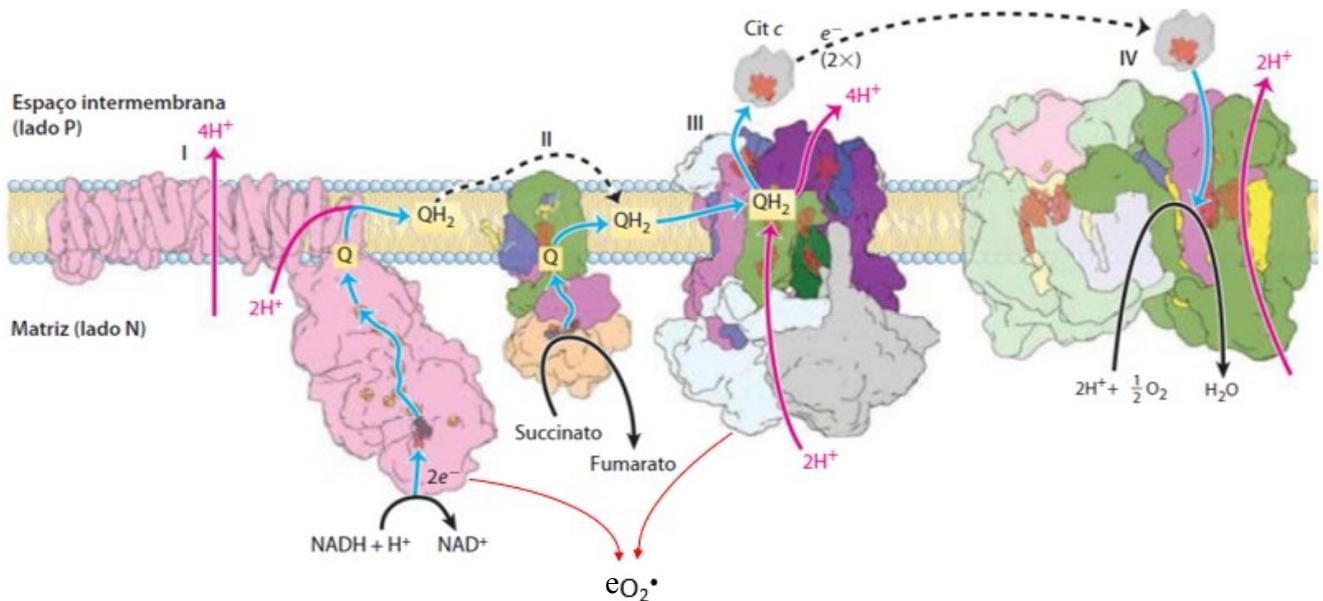
A partir dos estudos pressupostos sobre o referente assunto supracitado originou-se a Teoria da Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença (DOHaD) (BARKER, 2007). Um compilado de teorias relacionadas a origem das doenças crônicas terem um ambiente em comum. Segundo a teoria, a origem dessas enfermidades degenerativas na fase adulta estaria relacionada as alterações metabólicas e funcionais dos órgãos em função de alterações ambientais pré e pós-natal. A DOHaD originou a ideia de uma plasticidade relacionada ao desenvolvimento, evento ao qual um genótipo gera uma variedade de estados fisiológicos distintos (fenótipos) em função de diferentes condições ambientais. Recentes dados da

literatura ratificam esse modelo mostrando interações ambientais e a expressão genica em diferente grau. Mostrando que além do ambiente microscópico celular, o modo em que os organismos se relacionam com ambiente também podem influenciar a expressão genica, aspectos comportamentais e morfológico (CHAMPAGNE; MEANEY, 2001; PARIKH, CLEMENT; FERNALD, 2006; ZHANG *et al.*, 2006). Todos esses estudos são tentativas de entender os mecanismos envolvidos com perspectivas futuras de tratamentos mais efetivos para tais patologias aumentando a sobrevivência das populações de risco.

2.2 Desnutrição, estresse oxidativo e snc na patogênese das dcd's

O estresse oxidativo é uma condição orgânica de desequilíbrio de produção de espécies reativas de oxigênio bem como sua remoção. No estado energético basal dos organismos as ERO's são formadas naturalmente pelas mitocôndrias na respiração celular. Cerca de 2% a 5% da produção ERO's é considerado normal e essencial para sinalização celular acima desses valores por longos períodos é prejudicial as células.

Figura 1: A CTE representada pelos complexos respiratórios mitocondriais (I à IV) responsáveis pela a oxidação das coenzimas reduzidas (NADH +H e FAH₂) provenientes principalmente do ciclo de Krebs. O bombeamento de prótons (setas rosas) para o espaço intermembrana se dá pelo fluxo de elétrons (setas azuis) ao decorrer da CTE até ser incorporado ao O₂ reduzindo-o a água (seta preta no complexo IV). Ao decorrer dessa atividade elétrons escapam dos complexos I e III formando a espécie reativa de oxigênio ânion



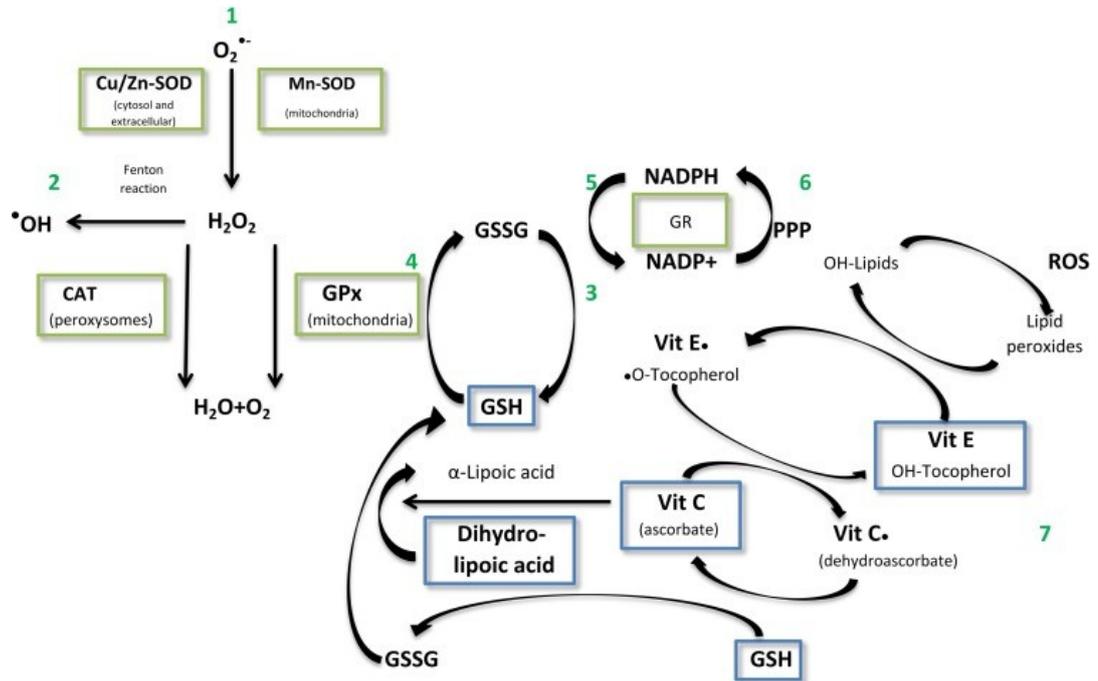
superóxido.

Fonte: Adaptado de NELSON; COX, 2013.

As ERO's são formadas principalmente nas mitocôndrias durante a respiração celular (figura 1), mais precisamente nos complexos I e III da cadeia transportadora de elétrons (CTE) pela redução monovalente do oxigênio formando uma molécula altamente reativa chamada de ânion superóxido (O_2^{\cdot}). O O_2^{\cdot} é a molécula precursora de outras ERO's com potenciais oxidantes maiores responsáveis a injurias teciduais danos a lipídios de membrana, oxidação de proteínas e até mesmo dano ao DNA.

Para evitar tais eventos celulares danosos, existem os sistemas antioxidantes enzimático e não enzimático que por meio de reações redox diminuem ou neutralizam a reatividade desses componentes (fig.2). O O_2^{\cdot} sofre dismutação pela enzima superóxido dismutase sendo convertido a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e este por sua vez é convertido a oxigênio e água pela catalase. Em adição, temos a família das glutations que tem função antioxidante independente das demais, a glutathione-S-transferase (GST) que tem função de detoxificação pela retirada de xenobióticos para o meio extracelular e redução do estresse oxidativo, a glutathione peroxidase (GPx) com função semelhante a catalase convertendo peróxido de hidrogênio a água e oxigênio na mitocôndria e a glutathione reduzida (GSH), um tiol não proteico participante das defesa antioxidante não enzimático, bem como cofator das enzimas da família das glutations doando grupamentos sulfidril (-SH) se oxidando a glutathione reduzida (GSSG). Entretanto, a literatura mostra que a desnutrição no PCD leva a disfunção tanto no sistema antioxidante enzimático quanto no não enzimático em diversos tecidos tais como coração, cérebro, rins, fígado levando a um quadro de estresse oxidativo sistêmico sendo um ponto de partida para diversas patologias degenerativas como Alzheimer, AVC, diabetes tipo II, hipertensão, infartos, Parkinson, entre outras.

Figura 2: Sistema antioxidante enzimático (verde) e não enzimático (azul).



Fonte: Adaptado de AGRWAL, 2017.

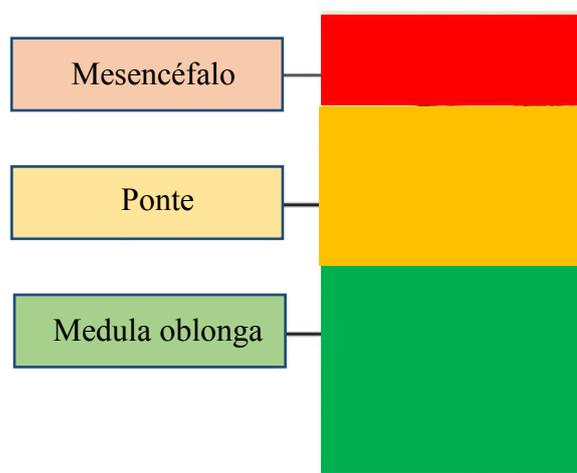
Para um bom desenvolvimento do SNC de um animal, é necessário harmonia entre a progenitora e o feto durante o PCD que pode ser mediada por meio de uma nutrição adequada, favorecendo de tal forma um crescimento saudável para o organismo fetal (DOBBING, 1981; GEORGIEFF, 2007). A nutrição é apontada como o fator não genético mais importante para o desenvolvimento do encéfalo e de imprescindível importância na proliferação dos neurônios, astrócitos, oligodendrócitos, desenvolvimento da bainha de mielina entre outros (MORGANE *et al.*, 1993; PRADO; DEWEY, 2014). Esses efeitos inerentes a nutrição adequada desempenham um papel fundamental no controle das funções do SNC tais como atividade motora, cognição (PRADO; DEWEY, 2014). A plasticidade é de suma importância durante os PCD, os quais conferem ao indivíduo habilidade de reorganizar-se metabolicamente frente aos insultos ambientais agudos, conferindo ao organismo vantagens adaptativas, sobretudo quando o ambiente pós-natal é diferente do ambiente pré-natal. A desnutrição materna sobre o metabolismo do feto implica na susceptibilidade de doenças metabólicas, por exemplo obesidade (LUCAS; DISEASE, 1991; GLUCKMAN; HANSON; BEEDLE, 2007). A este evento como já supracitado que denominamos de “programação fetal” corresponde a tentativa de adaptação frente a um novo insulto nutricional diferente do que foi ofertado no PCD e o aumento da predisposição de DCD (NEEL, 1962; LUCAS; DISEASE, 1991; LUCAS, 2005; GLUCKMAN; HANSON; BEEDLE, 2007).

O estresse oxidativo tem efeitos deletérios sobre os tecidos orgânicos, porém cada um tem um nível de susceptibilidade diferente (MANSEGO *et al.*, 2011; CERETTA *et al.*, 2012). Dentre os quais o SNC é o mais vulnerável às ERO's (CHAN *et al.*, 2006). Essa sensibilidade do SNC se dar por conta de suas características peculiares, tais como: alto consumo de oxigênio, elevada concentração de ácidos graxos poli-insaturados, grandes quantidades de íons metálicos, entre outros (CHAN *et al.*, 2006; HALLIWELL, 2006). Contudo, várias áreas cerebrais, incluindo o tronco encefálico, vêm sendo estudado na tentativa de elucidar os mecanismos subjacentes as etiologias de várias DC's, incluindo hipertensão e doenças cardiovasculares (CARDOSO, L. M. *et al.*, 2009; CHAN; CHAN, 2014).

2.4 Tronco encefálico, controle autonômico cardiovascular e estresse oxidativo

A principal função do sistema nervoso autonômico é manter a homeostase e coordenar as respostas fisiológicas do organismo por meio das suas subdivisões funcionais: sistema nervoso simpático e parassimpático. A frequência cardíaca e a pressão arterial são reguladas no TE. O TE é de importância imprescindível a sobrevivência dos vertebrados, está localizado entre o diencéfalo e a medula espinal, situando-se ventralmente ao cerebelo, sendo uma das primeiras porções do encéfalo a se desenvolver em termos de desenvolvimento do SNC relacionado a evolução. É dividido em três porções: mesencéfalo; ponte e medula oblonga, figura (3). Esta última está envolvida nas funções homeostáticas vitais básicas.

Figura 3: Divisões do tronco encefálico



Fonte: Adaptado de SILVA, 2018.

Na Medula oblonga (MO), existem regiões que compreendem a circuitos neurais tais como o núcleo do trato solitário (NTS) e o seguimento ventrolateral da medula oblonga (SVMO), que são responsáveis pelo controle autonômico cardiovascular figura (4) , que incluem controle da pressão arterial, frequência cardíaca, tônus autonômico vascular (REIS, 1984; GUYENET, 2006).

O NTS é composto por um aglomerado de corpos de neurônios localizado na parte do dorso medial da MO, é responsável pelo controle central das flutuações cardiovasculares em respostas dos impulsos provenientes dos barorreceptores e quimiorreceptores (MACHADO *et al.*, 1997; DALE *et al.*, 2002; CRAVO *et al.*, 2009). Também apresenta conexões com regiões do hipotálamo ligadas as respostas cardiovasculares a de longo prazo (figura 4) e ao

SVMO onde existem sítios neurais como a medula caudal ventrolateral (CVLM) e a medula rostral ventrolateral (RVLM) (DAMPNEY *et al.*, 2002).

A CVLM está localizada na parte caudal do seguimento ventrolateral da MO e tem função fundamental para o mecanismo barorreflexo, através de impulsos gabaérgicos (inibitórios) para a RVLM aumentando ou diminuindo sua função excitatória (glutamatergica) culminando no equilíbrio dinâmico pressórico (GUYENET, 2006).

A RVLM é constituída por neurônios glutamatergicos responsáveis pelo controle vasomotor instantâneo. Sua ação depende dos impulsos provenientes do CVLM que dependendo das informações transmitida do NTS ativado por respostas de aumento ou diminuição da pressão no seio carotídeo e no arco aórtico (GUYENET, 2006; CRAVO *et al.*, 2009). A partir dessa impulsos os neurônios da RVLM projetam impulsos diretamente aos neurônios pré-sinápticos da medula intermédular lateral (ILM) localizados na coluna vertebral projetando o fluxo simpático para vários tecidos incluindo coração e vasos sanguíneos (RICHARD *et al.*, 2001; KASPER *et al.*, 2015). A literatura mostra que lesões nessas áreas pode levar a inúmeras doenças cardiovascular ou até mesmo a morte dependendo da magnitude da lesão (FELIX; MICHELINI, 2007).

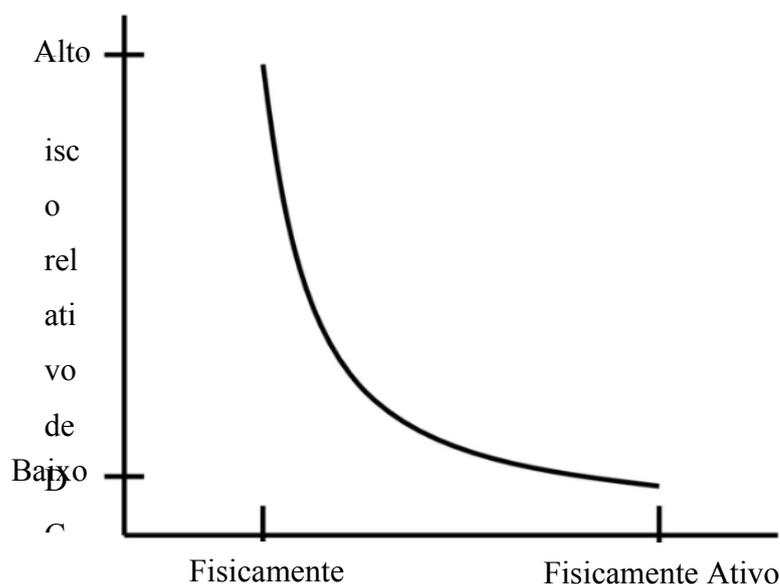
a restrição nos períodos iniciais da vida (FERREIRA *et al.*, 2016). Em paralelo, ALVES *et al.* (2014), com um ensaio experimental semelhante, observou que a privação proteica levou a maiores valores de pressão arterial em animais com 90 dia de vida. Franco. *et al.*, (2002) utilizando modelo de desnutrição no período gestacional (pré-natal) identificou disfunção endotelial e um aumento nos valores da pressão arterial em ratos machos *wistar* com 14 semanas de idade, sendo um dos estudos pioneiros em elucidar mecanismos fisiopatológicos cardíacos.

Esses dados da literatura mostram uma íntima relação entre as flutuações de frequência cardíaca e pressão arterial com estado redox. Sabe-se que as ERO's causam danos as células nervosas do tronco encefálico e conseqüentemente distúrbios no controle autonômico cardiovascular (NAYATE *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2016).

2.5 Estilo de vida, doenças crônicas degenerativas e exercício físico

O estilo de vida sedentário atrelado a hábitos alimentares inadequados faz parte dos grandes problemas de saúde pública no mundo. Esses, são fatores de riscos para o aumento da prevalência para as DC's (figura 5) (MATTEONI *et al.*, 1999; TARGHER; MARRA; MARCHESINI, 2008). Cerca de 1,4 bilhão de pessoas no mundo não praticam atividade física (GUTHOLD *et al.*, 2018). Aproximadamente 47% da população brasileira está abaixo dos níveis recomendados pelo American College of Sports Medicine (ACMS) de exercício físico, equivalentes a no mínimo 150 minutos de exercício físico de intensidade moderada por semana (BUSHMAN, 2016; GUTHOLD *et al.*, 2018).

Figura 5: Relação entre o risco de doenças crônicas e o nível de atividade física



fonte: Adaptado de WARBURTON et al., 2010.

O termo atividade física diz respeito a contração do musculo esquelético elevando o gasto energético acima dos níveis basais (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985). Já o exercício físico (EF) é uma atividade física de forma sistemática com controle das variáveis como duração e intensidade as quais caracterizam o tipo do exercício físico (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985).

Os benefícios do EF já estão bem estabelecidos na literatura e incluem diminuição da susceptibilidade a doenças cardiovasculares, neoplasias, diabetes tipo II, Parkinson, Alzheimer (LAKKA; BOUCHARD, 2005; WARBURTON *et al.*, 2010; OLDERVOLL *et al.*, 2011; SIMIONI *et al.*, 2018). Sabe-se que EF do tipo aeróbio e de intensidade moderada (EFM) auxilia no balanço oxidativo diminuindo as ERO's do organismo resultando em uma menor predisposição a DC's (LAKKA; BOUCHARD, 2005; RADAK *et al.*, 2013). As ERO's produzidas durante a prática do EFM são de fundamental importância para as adaptações relacionadas ao estresse oxidativo como o aumento da atividade dos sistemas antioxidantes (LAKKA; BOUCHARD, 2005; RADAK *et al.*, 2013; WIECEK *et al.*, 2018). Além disso o EFM aumenta a liberação de oxido nítrico dependente de endotélio resultando em uma menor pressão arterial (GOTO *et al.*, 2007), tem função cardioprotetora (AGARWAL, 2012), melhora a responsividade do sistema imune (NIEMAN, 2011).

Essas alterações tem uma positiva repercussão na saúde cardíaca e vascular, Lachance *et al.*, (2009) com um ensaio experimental com ratos com insuficiência valvar aórtica grave onde foram submetidos a um treinamento físico moderado observou um hipertrofia cardíaca fisiológica levando a uma maior sobrevida (LACHANCE *et al.*, 2009). Em adição, estudo com ratos desnutridos no PCD submetidos a um protocolo de EFM foi observado que além de aumentar a hipertrofia cardíaca fisiológica, o EF diminuiu o biomarcador do estresse oxidativo MDA devido ao aumento da atividade da SOD reduzindo os níveis de ânion superóxido no tecido cardíaco, mostrando ser um fator em potencial contra as DCD's.

3 OBEJTIVOS

3.1 Geral

Investigar os efeitos do treinamento físico moderado sobre o balanço oxidativo no tronco encefálico de ratos submetidos a restrição proteica materna.

3.2 Específicos

Avaliar no tronco encefálico:

Biomarcadores do estresse oxidativo

Níveis de peroxidação lipídica (MDA),

Níveis de oxidação proteica (Carbonilas),

Atividade enzimática metabólica:

Citrato Sintase

Atividades das enzimas antioxidantes:

Superóxido Dismutase (SOD),

Catalase (CAT),

Glutathione-S-Transferase (GST),

Componentes antioxidantes não enzimáticos

Níveis de Glutathione reduzida (GSH)

Razão GSH/GSSG

Níveis de Sulfidrilas (-SH)

4 METODOLOGIA DO TRABALHO

4.1 Animais e formação dos grupos experimentais

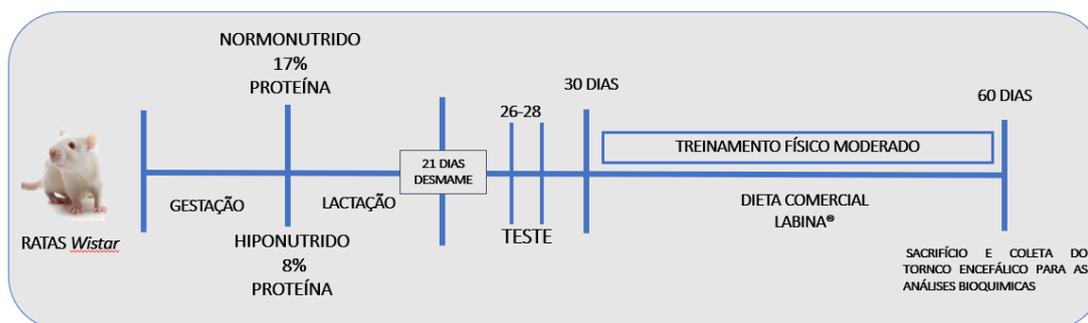
Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar* provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em sala com temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo claro-escuro de 12/12h (luz das 23:59 h às 12:00 h) e com livre acesso à alimentação e à água. Eles foram divididos em dois grupos experimentais de acordo com a dieta da mãe durante a gestação, sendo um grupo Controle normonutrido (N: 17% caseína n=12) e um hiponutrido (H: 8% caseína n=12). No 30º dia de vida os animais N e H foram subdivididos em sedentários (NS n=6 e HS n=6) e treinados (NT=6 e HT=6) de acordo com o teste de familiarização que indicou quais animais seriam mais aptos para o a administração do protocolo de exercício moderado. Os animais que não se enquadraram no programa de treinamento (NS e HS) permaneceram nas gaiolas no mesmo ambiente que os treinados, pelo mesmo período de tempo de realização do exercício físico moderado.

4.2 Protocolo de treinamento físico

Entre 26ª e 28º dia Foram feitos os teste de familiarização e o de esforço físico máximo em esteira. O teste de mensuração da capacidade máxima de corrida em esteira foi feito em esteira adaptada para ratos com velocidade inicial de 5m/min (0,3km/h) com progressão de 1,66m/min (0,1km/h) a cada 3 minutos. A exaustão foi definida pela incapacidade de os animais manterem o ritmo da velocidade da esteira por mais de 10 segundos (BROOKS; WHITE, 1978; CARVALHO *et al.*, 2005; MENDES *et al.*, 2013). No 30º dia de vida, os grupos NT e HT foram submetidos a um programa de treinamento físico moderado, em esteira ergométrica adaptada, modelo: 9015.5.X (para ratos), INBRAMED, Porto Alegre – RS – Brasil, e seguiram o protocolo de treino durante 4 semanas, por 5 dias/semana e 60 min/dia a 50% da capacidade máxima de corrida em esteira (BELLÓ-KLEIN *et al.*, 2000; BRAZ *et al.*, 2015).

4.3 Desenho experimental

Figura 6: Ilustração do ensaio experimental



Fonte: BERNARDO, E. M., 2019

4.4 Coleta dos tecidos

Aos 60 dias de vidas os animais foram sacrificados por decapitação em guilhotina, rapidamente coletado o tronco encefálico e armazenando em -20°C para análises bioquímicas.

5 ANÁLISE BIOQUÍMICA

5.1 Preparo do homogeneizado do tecido coletado para utilização nas técnicas bioquímicas

Os troncos coletados foram homogeneizados em 2ml 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 homogenização as amostras serão centrifugadas a 4.000 rpm, a 4° C, por 10 minutos e os sobrenadantes serão submetidos à quantificação de proteína utilizando o método Bradford (1976).

5.2 Quantificação dos níveis de peroxidação lipídica

O método utilizado para a mensuração foi o TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) descrito por Buege e Aust (1978), foi adicionado 200µg de proteína 200µl em ácido tricloroacético a 30% e 200µg de tampão TRIS-BASE, 10 mM (pH 7,4) agitados e centrifugados a 6.500 rpm por 5 minutos a 4°C, foi coletado o sobrenadante e adicionado ácido tiobarbitúrico a 0,73% em volumes iguais reagem com compostos da misturados a 30% ácido tricloroacético e tampão TRIS (10 mM) em volumes iguais, seguido de fervura a 100 ° C por 15 minutos. Malonaldeído (MDA) e outros compostos liberados pela peroxidação lipídica reagem com estes reagentes produzindo uma coloração rosa e em seguida é lido e espectrofotômetro em comprimento de onda de 535 nm. Os níveis de MDA foram expressos em nmol /mg de proteína.

5.3 Quantificação do conteúdo de carbonilas

Foi adicionado ácido tricloroacético (TCA) a 30% p/v a homogenatos contendo 200 µg de proteína/ml e mantido no gelo. As amostras foram então centrifugadas por 10 min a 4.000 rpm. e os sedimentos foram suspensos em 10mM 2,4-dinitrofenil-hidrazina e imediatamente colocados em uma câmara escura por 1 h de incubação. Amostras foram então lavados e centrifugados, e o sedimento final suspenso em cloridrato de guanidina 6M e incubado por 30 min a 37 ° C. O produto final da reação foi medido a uma absorbância de 370 nm (REZNICK; PACKER, 1994).

5.4 Avaliação da atividade enzimática da citrato sintase

A atividade enzimática foi determinada como descrito Ferreira D. J. S (2018). Resumidamente, em uma mistura de reação contendo (mM): 100 Tris-HCl (pH 8,2), 1 MgCl₂,

1 EDTA, 0,2 5,5-ditio-bis (ácido 2nitrobenzóico) ($\epsilon = 13,6 \mu\text{mol} / (\text{mL}\cdot\text{cm} - 1)$), 3 acetil-CoA, 5 oxaloacetato e 0,3 mg / mL de homogenato. A atividade enzimática foi medida através da avaliação da taxa de variação da absorvância a 412 nm durante 3 minutos com intervalos de 30s a 25 ° C.

5.5 Avaliação da atividade enzimática da superóxido dismutase (sod)

A atividade da SOD foi determinada de acordo com Misra e Fridovick (1972). Foi incubado 200 μg de proteína do tronco encefálico em tampão carbonato de sódio (0,5% pH 10.2, 0.1 mM de EDTA) a 37°C. A reação iniciou-se com adição do tampão em cubeta de vidro, proteína, 20 μl de adrenalina (diluída em ácido acético a 0.05%) e a absorvância foi lida a 480nm por espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, USA).

5.6 Avaliação da atividade enzimática da catalase (CAT)

O princípio deste ensaio é baseado na determinação da constante de velocidade (k) da decomposição de H_2O_2 , que sob nossas condições de temperatura (37° C) e pH, foi definido como $4,6 \times 10^7$. Um total de 200 μg de proteína de tronco encefálico foi usado para medir a atividade da catalase. Resumidamente, 0,3 M de H_2O_2 foi adicionado a uma mistura contendo aproximadamente 0,015 mL de homogenato e 50 mM de tampão fosfato (pH7.0). A absorvância foi medida a 240 nm durante 1 min (AEBI, 1984).

5.7 Avaliação da atividade enzimática glutathiona s-transferase (gst)

Um total de 200 μg de proteína do tronco encefálico foi usado para medir a atividade de GST, como anteriormente descrito por Habig, Pabst e Jakoby (1974). Resumidamente, tampão fosfato (0,1 M, pH 6,5 contendo 1 mM de EDTA) foi adicionado às amostras de tronco encefálico após a adição de 1 mM de 1-cloro-2,4- dinitrobenzeno (CDNB) e 1 mM de glutathiona reduzida (GSH), e a absorvância a 340 nm foi medido. A atividade de GST foi definida como a quantidade de proteína necessária para formar um μmol de 2,4-Dinitrofenil-S-glutathiona (DNP-SG).

5.8 Quantificação do balanço redox (GSH/GSSG)

Para avaliação dos níveis de GSH, uma alíquota do homogenato (200 μ g) foi adicionada ao tampão fosfato (0,1 M –pH 8,0) contendo EDTA (5mM) e incubada com o-phthaldialdehyde (OPT, 1mg/ml) a temperatura ambiente por 15 min. Os níveis de GSSG serão avaliados, incubando uma alíquota da amostra com N-ethylmaleimide (40 mM) por 30 min a temperatura ambiente seguida da adição de tampão fosfato de sódio (NaOH, 100mM). Após esse procedimento, os mesmos passos para avaliação da GSH serão utilizados para determinar os níveis de GSSH. A intensidade de fluorescência será mensurada a 350 nm de excitação e 420 nm de emissão e comparadas com uma curva padrão de GSH ou GSSG com valores pré-estabelecidos (0,5-10 μ M). O estado REDOX será determinado pela razão de GSH/GSSH e os resultados serão expressos em nmol/mg of protein (HISSIN e HILF, 1976).

5.9 Quantificação de grupamentos tióis totais (sulfidrilas)

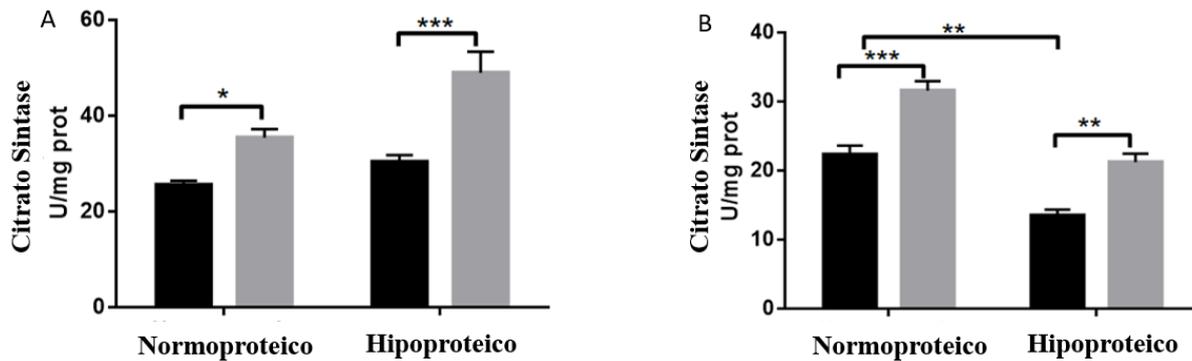
As alíquotas do homogenato de tronco encefálico (200 μ g) foi incubada por 30 minutos no escuro com 10 mM de 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) e o volume final de 1 mL será completado com tampão de extração pH 7,4. A absorvância foi lida a um comprimento de onda de 412 nm em espectrofotômetro e os resultados serão expressos em nmol/mg proteína (ELLMAN, 1959).

6ANALISE ESTATÍSTICA

Os valores serão expressos com médias \pm SEM, e para comparação dos dados será usado a análise de variância ANOVA Two-way e o pós teste de TUKEY para as múltiplas comparações. Será adotado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para todas as análises. Todas as análises estatísticas serão desenvolvidas no programa GrapPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA USA).

7 RESULTADOS

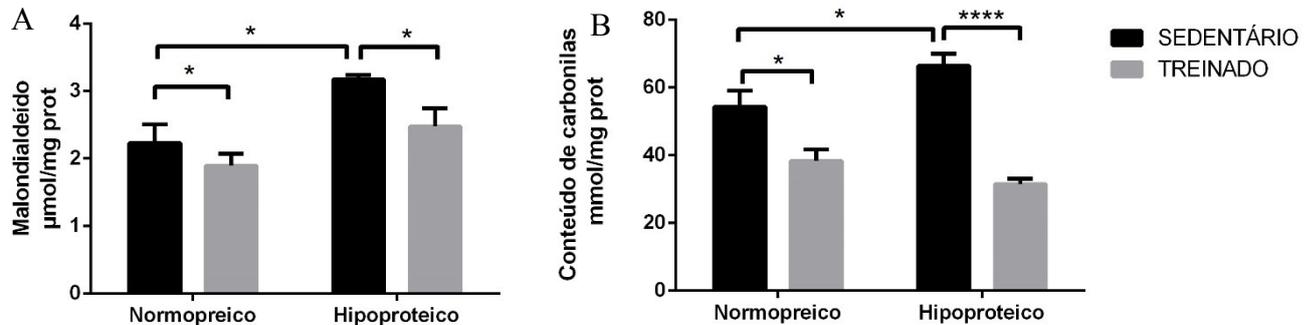
Figura 7. Atividade da Citrato Sintase nos músculos Extensor longo dos dedos (A) e Sóleo (B) de ratos machos de 60 dias submetidos a desnutrição proteica e 4 semanas de exercício físico moderado. Grupo NS; N =5, grupo HS; N =6, grupo NT; N =6 e grupo HT; N =6. Valores expressos em média \pm EPM (*P <0,05, ANOVA two-way).



Fonte: BERNARDO, E. M., 2019

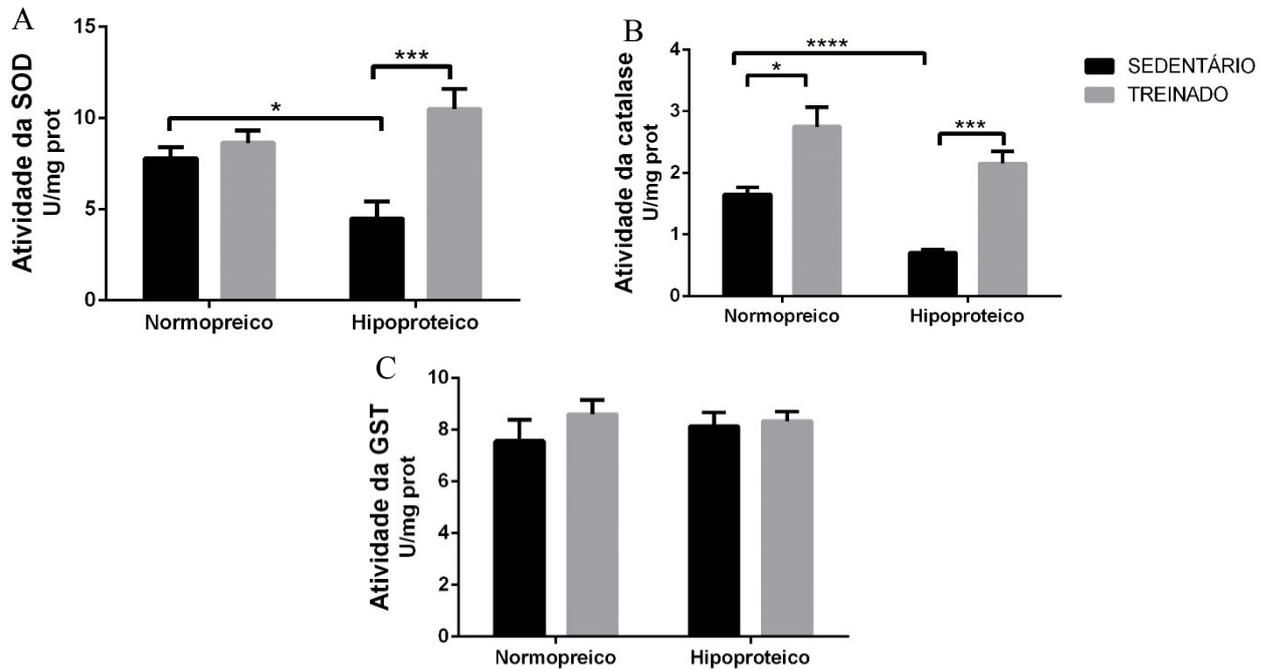
Figura 8. Biomarcadores do estresse oxidativo, (A) níveis de malonaldeído (MDA) e Carbonilas no tronco encefálico de ratos machos de 60 dias submetidos a desnutrição proteica e 4 semanas de exercício físico moderado. Grupo NS; N =5, grupo HS; N =6, grupo NT; N =6 e grupo HT; N =6. Valores expressos em média \pm EPM (*P <0,05, ANOVA two-way).

Fonte: Bernardo, E. M., 2019



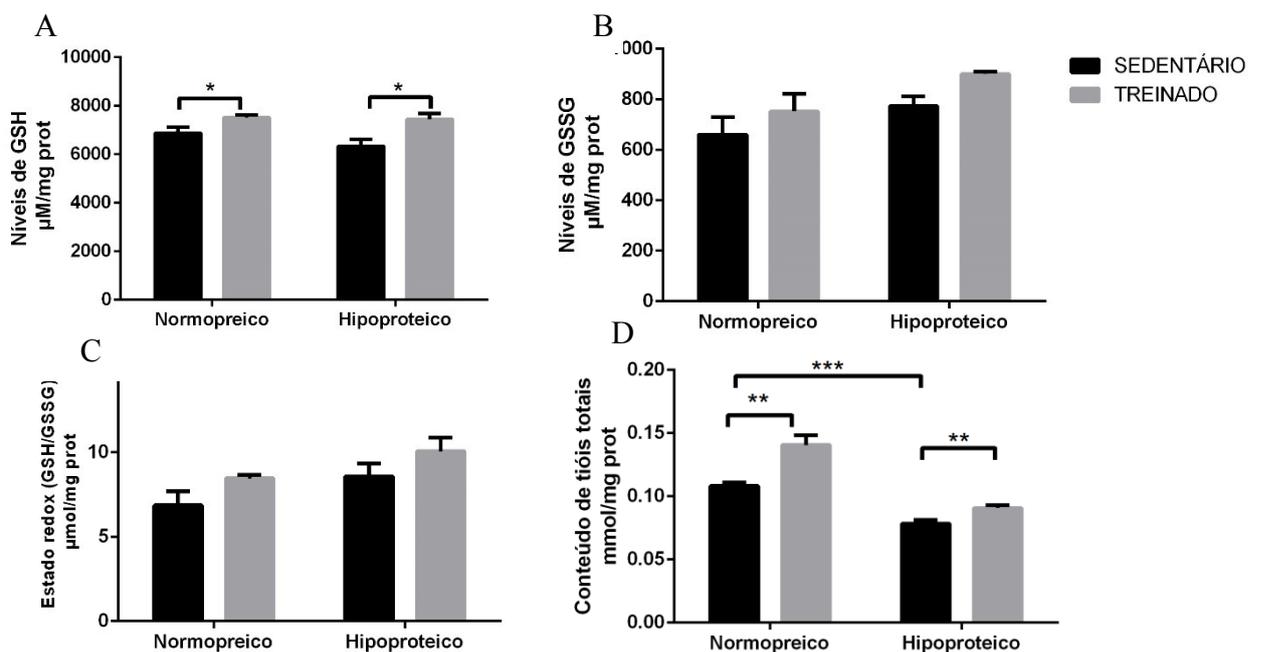
Fonte: BERNARDO, E. M., 2019

Figura 9. Atividade enzimática antioxidante (A) Superóxido Dismutase (SOD), (B) Catalase (CAT) e (C) Gutationa S-tranferase (GST) no tronco encefálico de ratos machos 60 dias submetidos a desnutrição proteica materna e a 4 semanas de exercício físico moderado. Grupo NS; N =5, grupo HS; N =6, grupo NT; N =5 e grupo HT; N =6. Valores expressos em média \pm EPM (*P <0,05, ***P<0,0001 ****P<0,0001; ANOVA two-way).



Fonte: BERNARDO, E. M., 2019

Figura 10. Atividade do sistema antioxidante não enzimático, (A) níveis de glutatona reduzida (GSH), (B) níveis de glutatona oxidada (GSSG), (C) estado redox (GSSH/GSSG) e (C) conteúdo de tióis totais (-SH) no tronco encefálico de ratos machos 60 dias submetidos a desnutrição proteica materna e a 4 semanas de exercício físico moderado. Grupo NS; N =5, grupo HS; N =6, grupo NT; N =6 e grupo HT; N =6. Valores expressos em média \pm EPM (*P <0,05, ***P<0,0001 ****P<0,0001; ANOVA tow-way).



Fonte: BERNARDO, E. M., 2019

8 DISCUSSÃO

A princípio, para caracterização da efetividade do protocolo de EFM foi avaliada atividade da Enzima Citrato Sintase (Fig. 7) nos músculos Extensor longo dos dedos (A) e Sóleo (B). A Citrato Sintase é uma das enzimas metabólicas chave do ciclo de Krebs, que é uma importante via do metabolismo oxidativo, e tem função de transferir o grupamento acetil do para o oxaloacetato formando citrato. O Protocolo de 4 semanas de EFM foi efetivo devido o aumento da atividade da Citrato Sintase de todos os grupos treinados quando comparado com os grupos sedentários respectivamente.

Ao analisarmos a peroxidação lipídica e a oxidação de proteínas (Fig.8), pode-se observar que a desnutrição proteica materna foi capaz de induzir o quadro de estresse oxidativo evidenciado pelo aumento significativo de MDA (A) e de carbonilas (B) no grupo HS quando comparado com o grupo NS. Além disso, na figura 2, observamos uma significativa redução da atividade da enzima SOD no grupo HS em comparação ao NS, corroborando com nossos dados, Ferreira *et al.*, (2016), observaram que a restrição proteica durante o período de desenvolvimento induz o estresse oxidativo, visto que maiores nos níveis MDA e carbonilas foram encontrados, bem como pela diminuição da atividade enzimas antioxidantes modificando o padrão neuroquímico dos filhotes que os predispôs a um desequilíbrio no controle central autonômico. Esse desequilíbrio autonômico cardiovascular já foi observado em protocolos semelhante de dieta, mostrando que insultos nutricionais em idades precoces aumenta a frequência cardíaca decorrente de valores pressóricos elevados em ratos de 90 dias de idade (ALVES, *et al.*, BARROS *et al.*, 2015.)

Relacionados as defesas antioxidante não enzimática não encontramos diferença significativa nos níveis de GSH entre os grupos HS e NS, mas o treinamento aumentou significativamente para os grupos NT e HT quando comparados com seus respectivos grupos NS e HS. Não foi encontrado diferença significativa nos níveis de GSSG e no estado redox. Relacionados as sulfidrilas, a dieta materna pobre em proteína foi capaz de reduzir os níveis e tióis totais no tronco encefálico do grupo HS quando comparado com o grupo NS e o exercício foi capaz de reverter esse quadro.

O exercício físico moderado (EFM) potencializa as atividades dos componentes antioxidante, que por sua vez atenua os efeitos do estresse oxidativo em diferentes regiões cerebrais (CHALIMONIUK *et al.*, 2015).

O exercício físico moderado além de melhorar o metabolismo cardíaco, consumo de oxigênio, angiogênese, aumenta a biogênese mitocondrial e diminui a pressão arterial (GIMENES *et al.*, 2015; TAO *et al.*, 2015; FERREIRA *et al.*, 2016; SALLAM; LAHER, 2016). A nível celular, a literatura aponta o EFM como atenuante do estresse oxidativo (GIMENES *et al.*, 2015; RANJBAR; NAZEM; NAZARI, 2016; SALLAM; LAHER, 2016).

Em ratos hipertensos induzido por sal, o EFM foi capaz de diminuir valores de pressão arterial e hipertrofia cardíaca devido uma menor excitotoxicidade glutamatérgica resultante de um menor quadro de estresse no tronco encefálico, mostrando um efeito cardioprotetor (LI *et al.*, 2018).

Nossos dados apontam uma redução significativas nos níveis de MDA do grupo HT em comparação com o grupo HS, em contrapartida, observou-se um aumento significativo na atividade da SOD dos animais HT quando comparados com os HS, aumentou os níveis de GSG nos grupos NT e HT quando comparados com os grupos NS e HS respectivamente, porém não obtivemos diferenças significativas nos níveis de GSSG e no estado redox. Esses dados sugerem que o EFM conseguiu reverter o estresse oxidativo causado pela desnutrição, retardando possíveis surgimento de doenças cardiovasculares em idade posteriores.

9 CONCLUSÃO

Nossos resultados mostram que a restrição proteica no período crítico do desenvolvimento afeta negativamente os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimático no TE, que pode ser um mecanismo para doenças relacionadas às funções hemodinâmicas básicas em idades posteriores. O exercício físico moderado regular conseguiu reverter o quadro de estresse oxidativo no TE pela potencialização da atividade das enzimas antioxidantes, apresentando um grande potencial como ferramenta chave de proteção cardiovascular diminuindo o risco de morbidade e mortalidade cauda pelas DCD's.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. [13] Catalase in vitro. In: (Ed.). **Methods in enzymology**: Elsevier, New York, v.105, 1984. p.121-126.
- AGARWAL, S. K. J. I. J. O. G. M. Cardiovascular benefits of exercise. **International Journal of Medicine**, Auckland, v. 5, p. 541, 2012.
- BARKER, D.; OSMOND, C. J. B. B. M. J. Low birth weight and hypertension. **BMJ**. Southampton v. 297, n. 6641, p. 134, 1988.
- BARKER, D. J. *et al.* Trajectories of growth among children who have coronary events as adults. **NEJM**, Boston, v. 353, n. 17, p. 1802-1809, 2005.
- BARKER, D. J.; OSMOND, C.; WINTER, P.; MARGETTS, B.; SIMMONDS, S. J. J. T. L. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. **Lancet**, London, v. 334, n. 8663, p. 577-580, 1989.
- BARKER, D. J. J. O. I. M. The origins of the developmental origins theory. **Jornal Of Internal Medicine**, Oxiford, v. 261, n. 5, p. 412-417, 2007.
- BARKER, D. J. P. J. J. O. T. A. C. O. N. The developmental origins of adult disease. **Journal Of The American College Of Nutrition, New York**, v. 23, n. sup6, p. 588S-595S, 2004.
- BELLÓ-KLEIN, A. *et al.* Submaximal exercise training in postnatal rats: hemodynamic and oxidative stress changes. **Experimental And Clinical Cardiology**, Ottawa v. 5, p. 149-153, 2000.
- BOUSQUET-SANTOS, K. *et al.* Resistance training improves muscle function and body composition in patients with hyperthyroidism. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, Philadelphia, v. 87, n. 8, p. 1123-1130, 2006.
- BRADFORD, M. J. S. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. Orlando, v. 72: 248–54. v. 178, p. 619-621, 1976.
- BRAZ, G. R. *et al.* Effect of moderate exercise on peritoneal neutrophils from juvenile rats. **Appl Physiol Nutr Metab**, Ottawa, v. 40, n. 9, p. 959-62, Sep 2015.
- BROOKS, G. A.; WHITE, T. P. J. J. O. A. P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. **Journal Of Applied Physiology**, Bethesda, v. 45, n. 6, p. 1009-1015, 1978.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: (Ed.). **Methods in enzymology**: Elsevier, New York, v.52, p.302-310. 1978.
- BUSHMAN, B. **Manual completo de condicionamento físico e saúde do ACSM**. Phorte Editora, São Paulo, 1ªed, 2016.

CARDOSO, L. M. *et al.* Cardiovascular responses to hydrogen peroxide into the nucleus tractus solitarius. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda v. 297, n. 2, p. R462-R469, 2009.

CARVALHO, J. F. *et al.* Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. **Molecular & Interactive Physiology**, New York, v. 140, n. 4, p. 409-413, 2005.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. J. P. H. R. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Republic Health Reports**, Hyattsville, v. 100, n. 2, p. 126, 1985.

CERETTA, L. B. *et al.* Increased oxidative stress and imbalance in antioxidant enzymes in the brains of alloxan-induced diabetic rats. **Experimental Diabetes Research**, New York, v. 2012, p. 1-8, 2012.

CHALIMONIUK, M. *et al.* Diversity of endurance training effects on antioxidant defenses and oxidative damage in different brain regions of adolescent male rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, Krakow, v. 66, n. 4, p. 539-547, 2015.

CHAMPAGNE, F.; MEANEY, M. J. Like mother, like daughter: evidence for non-genomic transmission of parental behavior and stress responsivity. In: (Ed.). **Progress in brain research**: Elsevier, v.133, 2001. p.287-302.

CHAN, S. H.; CHAN, J. Y. Brain stem NOS and ROS in neural mechanisms of hypertension. **Antioxidants & redox signaling**, New York, v. 20, n. 1, p. 146-163, 2014.

CHAN, S. H.; CHAN, J. Y. J. A.; SIGNALING, R. Brain stem NOS and ROS in neural mechanisms of hypertension. **Antioxidants & redox signaling**, New York, v. 20, n. 1, p. 146-163, 2014.

CHAN, S. H. *et al.* Reduction in molecular synthesis or enzyme activity of superoxide dismutases and catalase contributes to oxidative stress and neurogenic hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Free radical biology and Medicine**, New York, v. 40, n. 11, p. 2028-2039, 2006.

CRAVO, S. L. *et al.* Role of the medulla oblongata in normal and high arterial blood pressure regulation: the contribution of Escola Paulista de Medicina-UNIFESP. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 3, p. 589-603, 2009.

DALE, N. *et al.* Rapid adenosine release in the nucleus tractus solitarii during defence response in rats: real- time measurement in vivo. **The Journal of Physiology**, London, v. 544, n. 1, p. 149-160, 2002.

DAMPNEY, R. *et al.* Central mechanisms underlying short- and long- term regulation of the cardiovascular system. **Clinical and experimental pharmacology and physiology**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 261-268, 2002.

DAS, P.; HORTON, R. J. L. Physical activity-time to take it seriously and regularly. **Lancet**, London, v. 388, n. 10051, p. 1254-5, 2016.

- ALVES, J. L. B. *et al.* Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O₂/CO₂ chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. **Br J Nutr**, New York, v. 111, n. 4, p. 606-15, Feb 2014.
- DOBBING, J. J. E. H. D. Maternal nutrition in pregnancy-eating for two? **Early Hum Dev**, Amsterdam, v. 5, n. 2, p. 113, 1981.
- ELLMAN, G. J. B. B. Archs: Tissue sulfhydryl groups. **Arch Biochem Biophys**, New York, v. 82, p. 70-77, 1959.
- ERIKSSON, J. *et al.* Early growth, adult income, and risk of stroke. **Stroke**, Baltimore v. 31, n. 4, p. 869-874, 2000.
- FELIX, J. V. C.; MICHELINI, L. C. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarii. **Hypertension**, Hagerstown, v. 50, n. 4, p. 780-785, 2007.
- FERREIRA, D. J. S. *et al.* Mitochondrial bioenergetics and oxidative status disruption in brainstem of weaned rats: immediate response to maternal protein restriction. **Brain Res**, Amsterdam, v. 1642, p. 553-561, 2016.
- FERREIRA, D. J. S. *et al.* Perinatal low-protein diet alters brainstem antioxidant metabolism in adult offspring. **Nutritional neuroscience**, Abingdon, v. 19, n. 8, p. 369-375, 2016.
- FORSDAHL, A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? **Br J Prev Soc Med**, London, v. 31, n. 2, p. 91-5, Jun 1977.
- FRANCO, M. C. P. *et al.* Enhanced oxidative stress as a potential mechanism underlying the programming of hypertension in utero. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** New York, v. 40, n. 4, p. 501-509, 2002.
- FRANKEL, S. *et al.* Birthweight, body-mass index in middle age, and incident coronary heart disease. **Lancet**, New York, v. 348, n. 9040, p. 1478-1480, 1996.
- GEORGIEFF, M. K. J. T. A. J. O. C. N. Nutrition and the developing brain: nutrient priorities and measurement. **Am J. Clin Nutr.** Bathesda, v. 85, n. 2, p. 614S-620S, 2007.
- GIMENES, C. *et al.* Low intensity physical exercise attenuates cardiac remodeling and myocardial oxidative stress and dysfunction in diabetic rats. **J Diabetes Res**, Nasr City, v. 2015, p. 123-128, 2015.
- GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. **Science**, New York, v. 305, n. 5691, p. 1733-1736, 2004.
- GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BEEDLE, A. S. J. A. J. O. H. B. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. **Am. J. Hum. Biol.** New York, v. 19, n. 1, p. 1-19, 2007.

GODFREY, K. M.; GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Developmental origins of metabolic disease: life course and intergenerational perspectives. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, New York, v. 21, n. 4, p. 199-205, 2010.

GOTO, C. *et al.* Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. **Am. J. Hypertens**, New York, v. 20, n. 8, p. 825-830, 2007.

GUTHOLD, R. *et al.* Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: a pooled analysis of 358 population-based surveys with 1·9 million participants. **Lancet**, London, v. 6, n. 10, p. e1077-e1086, 2018.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. **Nature Reviews Neuroscience**, London, v. 7, n. 5, p. 335, 2006.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. J. J. O. B. C. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **J. Biol. Chem.** Baltimore, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.

HALES, C. J. A. P. Metabolic consequences of intrauterine growth retardation. **Acta paediatrica. Supplement**. Oslo, v. 86, n. S423, p. 184-187, 1997.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. J. D. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Int J Epidemiol**, London, v. 35, n. 7, p. 595-601, 1992.

HALLIWELL, B. J. J. O. N. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **J Neurochem**, New York, v. 97, n. 6, p. 1634-1658, 2006.

HANSON, M. *et al.* Developmental plasticity and developmental origins of non-communicable disease theoretical considerations and epigenetic mechanisms. **Prog Biophys Mol Biol**, New York, v. 106, n. 1, p. 272-280, 2011.

HANSON, M. A. *et al.* Developmental origins of health and disease: new insights. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, Copenhagen, v. 102, n. 2, p. 90-93, 2008.

HISSIN, P. J.; HILF, R. J. A. B. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Anal. Biochem.** San Diego, v. 74, n. 1, p. 214-226, 1976.

KASPER, D. *et al.* Harrison's principles of internal medicine. **McGraw-Hill Professional Publishing**, Boston, v. 19th ed. p.133, 2015.

KERMACK, W. O.; MCKENDRICK, A. G.; MCKINLAY, P. L. Death-rates in Great Britain and Sweden: expression of specific mortality rates as products of two factors, and some consequences thereof. **Epidemiology & Infection**, London, v. 34, n. 4, p. 433-457, 1934.

KISHI, T. *et al.* Increased reactive oxygen species in rostral ventrolateral medulla contribute to neural mechanisms of hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Circulation**, Ottawa, v. 109, n. 19, p. 2357-2362, 2004.

- LACHANCE, D. *et al.* Moderate exercise training improves survival and ventricular remodeling in an animal model of left ventricular volume overload. **Circ Heart Fail**, Hagerstown v. 2, n. 5, p. 437-445, 2009.
- LAKKA, T.; BOUCHARD, C. Physical activity, obesity and cardiovascular diseases. In: (Ed.). **Atherosclerosis: Diet and Drugs**: Springer, v. 4, n. 21, p.137-163, 2005.
- LI, H. B. *et al.* Exercise Training Attenuates Proinflammatory Cytokines, Oxidative Stress and Modulates Neurotransmitters in the Rostral Ventrolateral Medulla of Salt-Induced Hypertensive Rats. **Cell Physiol Biochem**, New York, v. 48, n. 3, p. 1369-1381, 2018.
- LUCAS, A.; FEWTRELL, M.; COLE, T. J. B. Fetal origins of adult disease—the hypothesis revisited. **BMJ**, London, v. 319, n. 7204, p. 245-249, 1999.
- LUCAS, A. J. J. O. P. Long-term programming effects of early nutrition—implications for the preterm infant. **J Perinatol**, Philadelphia, v. 25, n. S2, p. 2-8, 2005.
- LUCAS, A. J. T. C. E.; DISEASE, A. Programming by early nutrition in man. **Ciba Found. Symp**, Amsterdam, v. 1991, p. 38-55, 1991.
- MACHADO, B. H. *et al.* Autonomic processing of the cardiovascular reflexes in the nucleus tractus solitarii. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo v. 30, p. 533-5, 1997.
- MANSEGO, M. L.; REDON, J. *et al.* Different impacts of cardiovascular risk factors on oxidative stress. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 12, n. 9, p. 6146-6163, 2011.
- MATTEONI, C. A. *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. **Gastroenterology**, New York, v. 116, n. 6, p. 1413-1419, 1999.
- MENDES, O. C. *et al.* Exercise tolerance in rats with aortic stenosis and ventricular diastolic and/or systolic dysfunction. **Arq Bras Cardiol**, São Paulo, v. 100, n. 1, p. 44-51, 2013.
- MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. J. J. O. B. C. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.
- MORGANE, P. J. *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosci Biobehav Ver**, New York, v. 17, n. 1, p. 91-128, 1993.
- NAYATE, A. *et al.* Cardiac damage after lesions of the nucleus tractus solitarii. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 296, n. 2, p. R272-R279, 2009.
- NEEL, J. V. J. A. J. O. H. G. Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? **Am J Hum Genet**, Baltimore, v. 14, n. 4, p. 353, 1962.
- NELSON, D.; COX, M. Lehninger Principles of Biochemistry. **W.H.Freeman and Company**, New York, 6th edition p. 732-788, 2013.

NIEMAN, D. C. J. A. J. O. L. M. Moderate exercise improves immunity and decreases illness rates. **J Sport Health Sci**, Shanghai, v. 5, n. 4, p. 338-345, 2011.

NISHIHARA, M. *et al.* Oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla modulates excitatory and inhibitory inputs in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, London, v. 30, n. 1, p. 97-106, 2012.

OLDERVOLL, L. M. *et al.* O. Physical exercise for cancer patients with advanced disease: a randomized controlled trial. **Oconologist**, Dayton, v. 16, n. 11, p. 1649-1657, 2011.

OLIVEIRA-SALES, E. B. *et al.* Kidney-induced hypertension depends on superoxide signaling in the rostral ventrolateral medulla. **Hypertension**, Dallas, v. 56, n. 2, p. 290-296, 2010.

OPAS/WHO. OMS lança plano de ação global sobre atividade física para reduzir comportamento sedentário e promover a saúde. Brasília, 2018. Disponível em <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5692:oms-lanca-plano-de-acao-global-sobre-atividade-fisica-para-reduzir-comportamento-sedentario-e-promover-a-saude&Itemid=839>. **Acessado em:** 20 de setembro de 2019

PALOMO, G. M.; MANFREDI, G. J. B. R. Exploring new pathways of neurodegeneration in ALS: the role of mitochondria quality control. **Brain Res**, Amsterdam, v. 1607, p. 36-46, 2015.

PARIKH, V. N.; CLEMENT, T.; FERNALD, R. D. J. J. O. E. Physiological consequences of social descent: studies in *Astatotilapia burtoni*. **J Endocrinol**, Bristol, v. 190, n. 1, p. 183-190, 2006.

PASSOS, M.; RAMOS, C.; MOURA, E. J. N. R. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. **Nutrition**, Burbank, v. 20, n. 11, p. 1603-1612, 2000.

PEARSON, J. N. *et al.* D. Reactive oxygen species mediate cognitive deficits in experimental temporal lobe epilepsy. **Neurobiology of Disease**, San Diego, v. 82, p. 289-297, 2015.

PETERSON, J. R.; SHARMA, R. V.; DAVISSON, R. L. J. C. H. R. Reactive oxygen species in the neuropathogenesis of hypertension. **Curr Hypertens Repv**, Philadelphia, 8, n. 3, p. 232-241, 2006.

PETRY, C. J.; OZANNE, S. E.; WANG, C. L.; HALES, C. N. J. C. S. Early protein restriction and obesity independently induce hypertension in 1-year-old rats. **International Society of Hypertension**, London, v. 93, n. 2, p. 147-152, 1997.

PRADO, E. L.; DEWEY, K. G. J. N. R. Nutrition and brain development in early life. **Nutr Ver**, Washington, v. 72, n. 4, p. 267-284, 2014.

RADAK, Z. *et al.* Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. **Antioxid Redox Signal**, Larchmont, v. 18, n. 10, p. 1208-1246, 2013.

- RAJASEKARAN, A. *et al.* Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: pathways, mechanisms and implications. **Neurosci Biobehav Ver**, New York, v. 48, p. 10-21, 2015.
- RANJBAR, K.; NAZEM, F.; NAZARI, A. Effect of exercise training and L-arginine on oxidative stress and left ventricular function in the post-ischemic failing rat heart. **Cardiovascular toxicology**, New York, v. 16, n. 2, p. 122-129, 2016.
- RAVELLI, G.-P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. J. N. E. J. O. M. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **Current hypertension reports**, Philadelphia, v. 295, n. 7, p. 349-353, 1976.
- REEVES, S. *et al.* Effects of maternal tobacco-smoke exposure on fetal growth and neonatal size. **Expert Rev Obstet Gynecol**, London, v. 3, n. 6, p. 719-730, 2008.
- REIS, D. J. The brain and hypertension: reflections on 35 years of inquiry into the neurobiology of the circulation. **Circulation**, Dallas, v. 70, n. 5 Pt 2, p. III31-45, 1984.
- REZNICK, A. Z.; PACKER, L. [38] Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. In: (Ed.). **Methods in enzymology**: Elsevier, New York, v.233, p.357-363, 1994.
- RICHARD, D. *et al.* Uncoupling protein 2 in the brain: distribution and function. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 29, n. 6, p. 812-817, 2001.
- RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, P. *et al.* Implication of oxidative stress in fetal programming of cardiovascular disease. **Front Physiol**, Lausanne, v. 9, 2018.
- SALLAM, N.; LAHER, I. Exercise modulates oxidative stress and inflammation in aging and cardiovascular diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, New York, v. 2016, 2016.
- SHEPHERD, P. *et al.* Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. **Br J Nutri**, New York, v. 78, n. 1, p. 121-129, 1997.
- SILVA, T. L. A. **Fluoxetina Neonatal Como Modulador Positivo Da Bioenergética Mitochondrial De Ratos Machos: Será Que A Fluoxetina Pode Mimetizar Os Efeitos Dos Estrógenos?** 2018. 135 f. Dissertação (Doutorado em Neurociência) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/31902>>. Acesso em: 21 out. 2019.
- SILVEIRA, P. P. *et al.* Developmental origins of health and disease (DOHaD). **J Pediatr**, Rio J, v. 83, n. 6, p. 494-504, Nov-Dec 2007.
- SIMIONI, C. *et al.* Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. **Ocontagert**, Albany, v. 9, n. 24, p. 17181, 2018.
- SNOECK, A. *et al.* Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. **Bio Neonate**, Basel v. 57, n. 2, p. 107-118, 1990.

SWOMLEY, A. M.; BUTTERFIELD, D. A. J. A. O. T. Oxidative stress in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: evidence from human data provided by redox proteomics. **Arch Toxicol**, Berlin, v. 89, n. 10, p. 1669-1680, 2015.

TAO, L.; BEI, Y.; ZHANG, H.; XIAO, J.; LI, X. Exercise for the heart: signaling pathways. **Oncotarget**, New York v. 6, n. 25, p. 20773, 2015.

TARGHER, G.; MARRA, F.; MARCHESINI, G. J. D. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? **Diabetologia**, Berlin, v. 51, n. 11, p. 1947-1953, 2008.

UNICEF. **Campanhas/saúde-desnutrição**. UNICEF 2017.

VAISERMAN, A. J. N. Early-life nutritional programming of type 2 diabetes: experimental and quasi-experimental evidence. v. 9, n. 3, p. 236, 2017.

WADSWORTH, M. *et al.* Blood pressure in a national birth cohort at the age of 36 related to social and familial factors, smoking, and body mass. **Br Med J**, London, v. 291, n. 6508, p. 1534-1538, 1985.

WARBURTON, D. E. *et al.* A systematic review of the evidence for Canada's Physical Activity Guidelines for Adults. **Int J Nutr Phys Act**, Londres, v. 7, n. 1, p. 39, 2010.

WIECEK, M. *et al.* Anaerobic exercise-induced activation of antioxidant enzymes in the blood of women and men. **Front Physiol**, Lausanne, v. 9, p. 1006, 2018.

WU, G. *et al.* Impacts of arginine nutrition on embryonic and fetal development in mammals. **Amino Acids**, Wien, v. 45, n. 2, p. 241-256, 2013.

YANG, Q. *et al.* A case-control study of maternal alcohol consumption and intrauterine growth retardation. **Ann Epidemiol**, New York, v. 11, n. 7, p. 497-503, 2001.

ZHANG, T.-Y. *et al.* Maternal programming of defensive responses through sustained effects on gene expression. **Biol Psychology**, Amsterdam, v. 73, n. 1, p. 72-89, 2006.

ANEXO A - COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 28 de maio de 2019

Ofício nº 26/19

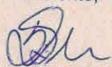
Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Claudia Jacques Lagranha**
Centro de Vitoria de Santo Antônio (CAV)
 Universidade Federal de Pernambuco
 Processo nº 0060/2018

Certificamos que a proposta intitulada **“Efeito do treinamento físico moderado sobre os padrões epigenéticos induzido pela desnutrição proteica perinatal: avaliação das respostas nas mitocôndrias cardíacas.”** registrado com o nº 0060/2018 sob a responsabilidade de **Prof. Claudia Jacques Lagranha** o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 28/05/2019.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/06/2019 a 10/08/2019
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	168
Peso/Idade	Progenitores: macho: 120dias/200-250g. Femea: 80 dias/ 150-200g
Sexo	16 (femeas) e 152(machos) considerando progenitores e estimativa de prole
Origem: Biotério de Criação	Bioterio do Departamento de Fisiologia
Destino: Biotério de Experimentação	Bioterio do Departamento de Fisiologia

Atenciosamente,


 Prof. Sebastião R. F. Silva
 Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2345691