UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

ELENILSON MAXIMINO BERNARDO

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E EXPRESSÃO DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS E GABAÉRGICOS NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS SUBMETIDOS A RESTRIÇÃO PROTEICA MATERNA

RECIFE

2022

ELENILSON MAXIMINO BERNARDO

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E EXPRESSÃO DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS E GABAÉRGICOS NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS SUBMETIDOS A RESTRIÇÃO PROTEICA MATERNA

Dissertação apresentada para o cumprimento parcial das exigências para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Profª Drª Claudia Jacques Lagranha

Coorientadora: Profª Drª Mariana Pinheiro Fernandes

RECIFE

2022

Catalogação na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Bernardo, Elenilson Maximino.
Efeitos do treinamento físico moderado sobre o estresse oxidativo e expressão de receptores glutamatérgicos e gabaérgicos no tronco encefálico de ratos submetidos a restrição proteica materna. / Elenilson Maximino Bernardo. – 2022.

74 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Claudia Jacques Lagranha.
Coorientadora: Mariana Pinheiro Fernandes.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e fisiologia, 2022.
Inclui referências.

1. Desnutrição. 2. Exercícios físicos. 3. Tonus vasomotor. 4. Hipertensão neurogênica - doenças crônicas. I. Lagranha, Claudia Jacques. (Orient.). II. Fernandes, Mariana Pinheiro. (Coorient.). III. Título.

587 CDD (22.ed.) UFPE/CB – 2023-127

ELENILSON MAXIMINO BERNARDO

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E EXPRESSÃO DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS E GABAÉRGICOS NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS SUBMETIDOS A RESTRIÇÃO PROTEICA MATERNA

Dissertação apresentada para o cumprimento parcial das exigências para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco

Aprovado em: 01/08/2022.

BANCA EXAMINADORA

_____

Profª Drª Claudia Jacques Lagranha (Orientadora)
Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte do
Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da UFPE

_____

Profª Drª Mariana Pinheiro Fernandes
Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte,
Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão – UFPE

_____

Drª Aline Isabel da Silva
Laboratório de Bioquimia Geral, Molecular e do Exercício
Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão – UFPE

_____

Profº Drº Leucio Duarte Vieira Filho
Departamento de Fisiologia e Farmacologia,
Centro de Biociências - UFPE

AGRADECIMENTOS

Chegando a mais um termino e um clico da minha vida profissional e quero agradecer, primeiramente, a Deus pela vida, saúde e todas as bençãos recebidas. Sem Ele nada disso seria possível. Támbem agradeço a Nossa Senhora da Conceição pela interceção e graças alcançadas.

Agradeço a minha família (Pais: Luizia Heleno Maximino; Edilson Ventura Bernardo; irmãos: Elizangêla Maximino Bernardo; Lucas Gabriel Maximino de Carvalho e Maria Adriele de Souza Bernardo) pelo amor e paciência nos momentos de ausência, principalmente a minha mãe que sempre pergunta quando eu volto para casa. Obrigado à todos vocês imensamente!

Agradeço a minha noiva, Rayanne, pela paciência, por todo carinho, compreeção, amor, companheirismo e até mesmo pelos puxões de orelhas (😊). Você consegue filtrar meus dias ensolarados e colorir os dias cinzas. Amo você demais e obrigado pelo seu apoio!

Agradeço as amizades conquistadas na graduação: Willams, Bryan, Vitor, Renatto, etc. Que depois de tanto tempo (2016) ainda rimos das mesmas piadas.

Quero agradecer imensamente aos “Pós da Jacques” antigos, Anderson, Cassia, Danielle. Anderson... que chavama carinhosamente de mestre e evoluiu para doutor. Além de admirar tenho um orgulho enorme da sua resiliência frente os “receba” da vida e da sua evolução como profissional. Lembro que a gente nem se batia muito no inicio, porém viramos amigos e isso que importar. Cassia, gosto de chamar de cacá. A minha relação com você é diferente das demais, é como se fossémos irmão. Eu gosto de sua espontaneidade (inclusive nas festas, hahahahhahahaahhhaah), do seu lado profissional de ser (mini lagranha, xiiiiiiii) você é fera no que faz, acredite nisso, obrigado por tudo. Danielle, a Jaque, a mais sincera e espontânea de todas!! Gosto de você de graça, ninguém se sente sonzinha na sua presença. Obrigado pela sua amizade!

Não posso esquecer de Diorginis, que me ajudou bastante nessa etapa final do mestrado. Obrigado por todo conhecemento transmitido.

Jonatas, Gluilherme, Osmar, Vanessa, e Thiago os contemporâneos da Jacques, parabéns pelo impenho de vocês e pela evolução. Jonata, em particular, foi meu IC, gosto de trabalhar com você, um cara organizado e compentente no que faz. Desejo muito sucesso a todos vocês.

Agradeço também aos alunos e alunas da profª Mariana ("os de Mari"), Allifer, Deisiane, Leticia, Gizele, Neto, Wellington, Will. Allifer (Ronzendo da retífica) e Will (meu menino) tenho uma convivência muito maior com vôces por dividir desdenvolvimento de projeto (Allifer) e até mesmo dividir apartamento (Will) e quando se juntam podem ter certeza que a resenha tá feita. Meu muito obrigado a todos!!!

Aos recém-chegados do laboratórios, Adriel, Tamara e Carlos parabéns por terem conseguido a vaga. Estão no melhor lugar para o crescimento profissional de vocês.

Agradeço a profª Mariana, minha coorientadora, por todo conhecimento transmitido. Tenho um carinho um respeito enorme pela senhora. Um exemplo de pesquisadora que sempre está preocupada com seus alunos e luta diariamente para manter a pesquisar no interior do estado. Muito obrigado por tudo!

Agora é a hora de agradecer a minha orientadora, A LAGRANHA. A Profª Claudia Jacques Lagranha, máximo respeito a senhora, não tenho palavras pra descrever-la porque a senhora é imparável. Uma estrela além do tempo. Uma pesquisadora que está preocupada a todo momento com seus alunos, que está sempre junto para ensinar, dar bronca quando a gente merece e mostrando sempre como deve funcionar a mente de um pós-graduando. E isso me dão forças para continuar me esforçando e conquistar os espaços que forem ofertados. Obrigado por todo conhecimento e contribuições para minha vida acadêmica/profissional e pessoal que já foi e ainda será transmitido. A senhora é um exemplo de profissionalismo a ser seguido.

Quando eu era aluno de inicição cientifica do LAMEX (7º periodo da graduação), eu tinha um único arrependimento que era não ter iniciado mais cedo no laboratório. Entretanto, hoje em dia já não penso mais assim. Nada é por acaso, e hoje sou grato por ter entrado extamente naquele momento da minha vida, sou grato pelas pessoas que

conheci no laboratório e por meio dele. Talvez se fosse antes ou depois poderia não estar escrevendo essa dissertação.

Não temos a melhor estrutura do mundo, mas o que fazemos é com amor a ciência, respeito aos animais e com profissionalismo.

Assim como Anderson falou na sua tese, “nós que fazemos o LABMEX acontecer” temos uma ligação muito forte, somos uma família e sempre faremos parte uns das vidas dos outros.

Obrigado a todos vocês por fazerem parte desse ciclo da minha vida!

"Virgem Santíssima, que fostes concebida sem o pecado original e por isto merecestes o título de Nossa Senhora da Imaculada Conceição e por terdes evitado todos os outros pecados, o Anjo Gabriel vos saudou com as belas palavras: Ave Maria, cheia de graça; nós vos pedimos que nos alcanceis do vosso divino Filho o auxílio necessário para vencermos as tentações e evitarmos os pecados e, já que vos chamamos de Mãe, atendei-nos com carinho maternal e ajudai-nos a viver como dignos filhos vossos. Nossa Senhora da Imaculada Conceição, rogai por nós. Amém!"

Oração à imaculada conceição

RESUMO

Estudos demonstram uma forte correlação entre insultos nutricionais inadequados, como a desnutrição proteica, durante os períodos de gestação e de lactação na gênese de doenças crônicas, incluído a hipertensão. Entre vários mecanismos levantados para tais patologias, o estresse oxidativo tem uma influência relevante. Em contraste, o exercício físico moderado é apontado como um modulador positivo do estresse oxidativo e do fluxo simpático central, reduzindo o risco do surgimento dessas doenças, sendo ele uma estratégia para combater o aparecimento e/ou progressão de doenças crônicas. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do treinamento físico moderado sobre o balanço oxidativo e a expressão de peptídeos excitatórios e inibitórios no tronco de ratos jovens submetidos a desnutrição proteica materna. Inicialmente, 8 ratas prenhas foram divididas em dois grupos experimentais: controle (C) e desnutrido (D), que receberam respectivamente uma dieta contendo 17% e 8% de caseína durante toda a gestação e lactação. Durante os dias 26, 27 e 28 os animais realizaram o teste de esforço incremental em esteira, aos 30 dias de vida, os grupos controle (C) e desnutridos (D) foram subdivididos em grupos não treinados (CNT e DNT) e treinados (CT e DT), sendo então submetidos a um programa de treinamento físico moderado (50% da capacidade máxima de corrida) em esteira ergométrica durante 4 semanas durante 1 hora por dia. Aos 60 dias, o tronco encefálico foi coletado e as seguintes análises foram realizadas: atividade enzimática da citrato sintase, biomarcadores do estresse oxidativo: MDA e Carbonilas; atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT, e GST; atividade do sistema antioxidante não-enzimático: Sulfidrilas, GSH,GSSG e a Razão GSH//GSSG; expressão gênica dos peptídeos excitatório (GRIN1 e GRIA1); expressão gênica dos peptídeos inibitórios (GABRA1, GABRB2, GABARAPL1 e GAD); e a expressão gênica da UCP2. De forma resumida, observamos que os animais que receberam uma dieta com menor teor de proteínas apresentaram prejuízo no metabolismo oxidativo, desbalanço no estado REDOX e uma maior sensibilidade a impulsos excitatórios. Por outro lado, o exercício físico reverteu o estresse oxidativo e modula de forma inversa a expressão dos peptídeos excitatórios e inibitórios no tronco encefálico dos ratos desnutridos.

Palavras-chave: Desnutrição; Exercicio físico moderado; Tonus vasomotor, Hipertensão neurogênica; Doenças crônicas.

ABSTRACT

Studies demonstrate a strong correlation between inadequate nutritional insults, such as protein malnutrition, during the periods of pregnancy and lactation in the genesis of chronic diseases, including hypertension. Among several mechanisms raised for such pathology, oxidative stress has a relevant influence. In contrast, moderate physical exercise is indicated as a positive modulator of oxidative stress and central sympathetic flow, reducing the risk of the emergence of these diseases, being it a strategy to combat the onset and/or progression of chronic diseases. Thus, the present study aimed to investigate the effects of moderate physical training on the oxidative balance and the expression of excitatory and inhibitory peptides in the trunk of young rats submitted to maternal protein malnutrition. Initially, eight pregnant rats were divided into two experimental groups: control (C) and malnourished (D), receiving a diet containing 17% and 8% casein throughout pregnancy and lactation. On days 26, 27, and 28 animals performed the incremental exercise test on a treadmill, at 30 days of life, the control (C) and malnourished (D) groups were subdivided into untrained (CNT and DNT) and trained (CT and DT), is then submitted to a program of moderate physical training (50% of the maximum capacity of race) in treadmill during 4 weeks for 1 hour per day. At 60 days, the brainstem was collected and the following analyzes were performed: Biomarkers of oxidative stress: MDA and Carbonyls; citrate synthase, SOD, CAT, and GST enzymatic activity; activity of the non-enzymatic antioxidant system: Sulphydryls, GSH, GSSG, and the GSH//GSSG Ratio; mRNA levels of excitatory peptides (GRIN1 and GRIA1); of inhibitory peptides (GABARA1, GABRB2, GABARAPL1 and GAD); and UCP2. In summary, we observed that animals that received a diet with a lower protein content showed impairment in oxidative metabolism, imbalance in the REDOX state, and greater sensitivity to excitatory impulses. On the other hand, physical exercise reverses oxidative stress and modulates inversely the expression of the excitatory and inhibitory peptides in the brainstem of malnourished rats.

Keywords: Malnutrition; Moderate physical exercise; Vasomotor tone, Neurogenic hypertension; Chronic diseases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Divisões do tronco encefálico.....21

Figura 2: Rede excitatória/inibitória no tronco encefálico.....25

Figura 3: Recaptação de glutamato na fenda sináptica.....27

Figura 4: Receptor NMDA.....31

Figura 5: Receptor de Cainato.....34

Figura 6: Via GABA Shunt.....36

Figura 7: Esquematização da composição e estrutura do rGABAA.....39

Figura 8: Ativação do rGABAB.....41

Figura 9: Esquematização do $rGABA_C$ 42

Figura 10: Ilustração do ensaio experimental.....47

Figura11: Avaliação da Citrato Sintase.....51

Figura 12: Biomarcadores de estresse oxidativo.....52

Figura 13: Sistema antioxidante enzimático.....53

Figura 14: Sistema antioxidante não enzimático.....54

Figura 15: Expressão da UCP2.....55

Figura 16: Expressão dos gênes excitatórios glutamatérgicos.....56

Figura 17: Expressão dos gênes inibitórios GABAergicos.....57

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Ingredientes da dieta.....46

Tabela 2: Sequência de primers usada para realizar qRT-PCR.....50

LISTA DE ABREVIATURA

$\Delta\psi m$	Potencial De Membrana Mitocondrial
AMPA	Alfa-Amino-3-Hidroxi-Metil-5-4-Isoxazolpropiónico
ATP	Adenosina Trifosfato
B-2M	Beta 2-Microglobulina
CAT	Catalase
Ca^{++}	Cálcio
CDNB	1-Chloro-2,4-Dinitrobenzene /1-Cloro-2,4-Dinitrobenzene
CNT	Controle Não Treinado
CVLM	Medula Caudal ventrolateral
CTE	Cadeia Transportadora Elétrons
CT	Controle Treinado
CS	Citrato Sintase
DC's	Doenças Crônicas
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DNPH	2-4 Dinitrofenil-Hidrazina
DNT	Desnutrido Não Treinado
DT	Desnutrido Treinado
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EFM	Exercício Físico Moderado
ERO's	Espécies Reativas De Oxigênio
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GABARA1	Subunidade Alfa-1 Do Receptor De Ácido Gama-Aminobutírico
GABARAPL1	Proteína Associada Ao Receptor De Ácido Gama-Aminobutírico Do Tipo 1
GABRB2	Subunidade Beta-2 Do Receptor Do Ácido Gama-Aminobutírico
GAD	Descarboxilase Ácido Glutâmico
GAD2	Descarboxilase Ácido Glutâmico 2
GLU	Glutamato
GLN	Glutamina
GRIA1	Subunidade 1 Do Receptor Ionotrópico De Glutamato Do Tipo
GRIN1	Subunidade 1 Do Receptor Ionotrópico De Glutamato Tipo NMDA
Gpx	Glutationa Peroxidase
GSH	Glutationa Reduzida
GSR	Glutationa Redutase
GSSG	Dissulfeto De Glutationa
GST	Glutationa S Transferase
H_2O_2	Peróxido De Hidrogênio
H2O	Água
Mg^{2+}	Magnésio
MDA	Ácido Malonaldeído
NADH	Dinucleótido De Nicotinamida E Adenina Reduzida
NEM	N-Etilmaleimida
NMDA	N-metil-D-aspartato
NTS	Núcleo do Trato Solitário
O2•	Ânion Superóxido
OH-	Radical Hidroxila
OMS	Organização Mundial Da Saúde
ONOO-	Peroxinitrito

OPT	*O-Phthaldiadehyde*
PDC	Periodo Crítico do Desenvolvimento
REDOX	Potencial De Oxidação-Redução
RVLM	Medula Rostral Ventrolateral
SNARE	Receptores Solúveis Da Proteína De Fixação De NFS
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Substâncias Reativas Ao Ácido Tiobarbitúrico
TCA	Ácido Tricloroacético
UCP2	Proteína Desacopladora-2

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 17

3 OBJETIVOS 44

4. ANÁLISE BIOQUÍMICA 47

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA 51

6. RESULTADOS 51

7. DISCUSSÃO 57

8. CONCLUSÃO 63

9. REFERENCIAS 64

10. ANEXOS 73

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, um dos principais focos da saúde pública mudial é o combate às doenças crônicas (DC's) como hipertensão e infarto do miocárdio. As estimativas sugerem que cerca de 462 milhões de adultos estão abaixo do peso. Além disso, mais de 40% de taxa de mortalidade infantil está relacionada a desnutrição (SHRIVASTAVA; SHRIVASTAVA, 2019). Em 2020, mais de 149 milhões de crinças abaixo dos 5 anos estão abaixo do peso (WHO et al. 2021). Esses dados podem ser ainda maiores devido as restrições no acesso a serviços essenciais de nutrição durante a pandemia de COVID-19 (WHO et al. 2021).

Vários estudos epidemiológicos e experimentais têm demonstrado uma forte relação entre a desnutrição nas fases iniciais da vida (gravidez, lactação e primeira infância) e o aparecimento de DCs, incluindo hipertensão (BARKER, 2007; GLUCKMAN; HANSON; BEEDLE, 2007; HALES; BARKER, 1992; LUCAS, 1991).

A organização munidal de saúde (OMS) recomenda medidas profiláticas que incluem a prática de exercício físico atrelada a uma nutrição adequada que deve ser preconizadas desde o início da vida para se ter um potencial efeito na redução das DC's (WHO, *et al*. 2021).

O exercício aeróbico, como estratégia de modificação do estilo de vida, tem sido amplamente recomendado pelos principais centros, tais como OMS e o Colégio Americano de Medicina do Esporte, devido ao seu efeito de otimização sobre o sistema cardiovascular (BENJAMIN; MUNTNER; ALONSO; BITTENCOURT *et al.*, 2019; FRANKLIN; THOMPSON; AL-ZAITI; ALBERT *et al.*, 2020; TSAO; ADAY; ALMARZOOQ; ALONSO *et al.*, 2022). Entre os efeitos observados no sistema cardiovascular, podemos citar os efeitos positivos nos padrões fisiológicos hemodinâmicos, como redução da pressão arterial, diminuição do débito cardíaco, e a redução nos estimulo de excitação simpática do sistema nervoso central (SNC) em modelos de hipertensão (LI; LI; ZHAO; LV *et al.*, 2019; ZALESKI; TAYLOR; PARK; SANTOS *et al.*, 2019). Entretanto, os benefícios moleculares e bioquímicos associados à pratica do exercício físico moderado depende de algumas variáveis como tipo de exercício, periodização, duração, intensidade e volume. Há evidências de que a intensidade moderada leva à otimização do sistema antioxidante e restauração do

desequilíbrio simpato-excitatório central no tronco encefálico (LI; LI; ZHAO; LV *et al.*, 2019; WAFI; YU; GAO; ZUCKER, 2019). No entanto, os mecanismos sobre os quais o exercício físico modula o estresse oxidativo e a hiperatividade são pouco compreendidos.

Um dos focos principais do nosso grupo de pesquisa é a elucidação de mecanismos bioquímicos subjacentes a desnutrição proteica materna e ao surgimento prematuro de doenças cardíacas, bem como o uso de medidas profiláticas não farmacológicas que possam reverter/minimizar essa suscetibilidade a um fenótipo não saudável (FERREIRA; DA SILVA PEDROZA; BRAZ; DA SILVA-FILHO *et al.*, 2016; FERREIRA; LIU; FERNANDES; LAGRANHA, 2016; NASCIMENTO; FREITAS; SILVA-FILHO; LEITE *et al.*, 2014; SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021). Dando continuidade a esses estudos prévios, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do exercício físico moderado sobre o equilíbrio oxidativo e a expressão de genes excitatórios e inibitórios no tronco encefálico de ratos jovens expostos a desnutrição proteica materna.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Desnutrição materno-infaltil, estresse oxidativo e as doenças crônicas

As alterações provocadas por uma dieta pobre em proteína durante o período intrautreino associados aos maus hábitos alimentares, ao comportamento sedentário e a inatividade física na fase adulta fazem parte dos grandes problemas de saúde pública no mundo. Esses, são fatores de riscos modificaveis para a gêneses e prevalência para as DCs, incluído hipertensão e as doenças cardíacas nos países de baixa e média renda (TARGHER; MARRA; MARCHESINI, 2008; TREMBLAY; AUBERT; BARNES; SAUNDERS *et al.*, 2017; YOUNG; HIVERT; ALHASSAN; CAMHI *et al.*, 2016).

O ambiente nutricional durante as fases pré, pós-natal e primeira infância vêm sendo foco de estudos há décadas, onde essas evidências fortalecem a hipótese que um insulto nutricional durante as fases inicias da vida pode sensibilizar a prole causando variações que podem levar a quadros de instabilidade metabólica na vida adulta. E esses quadros poderão entrar em conflito com as condições que serão submetidas ao indivíduo em fases posteriores da vida (OROZCO-SOLIS *et al.*, 2011).

O período crítico do desenvolvimento (PDC), diz respeito as fases mais delicadas e importantes do desenvolvimento do organismo, conhecido como gestação, lactação e primeira infância. As altas taxas de proliferação e multiplicação celular correspondentes a organogênese, tornam esses períodos extremamente sensíveis e vulneráveis a quaisquer alterações do meio (HANSON; GODFREY; LILLYCROP; BURDGE *et al.*, 2011; LUCAS, 1991).

Evidências na literatura mostram que uma privação nutricional no PCD afeta diversos tecidos, trazendo efeitos insalubres sobre o desenvolvimento de vários tecidos e consequentemente do indivíduo, aumentando os riscos de desenvolvimento de doenças crônicas (DC’s) na vida adulta (BARKER; OSMOND, 1988; BARKER, 2007; BARKER, 2004; VAISERMAN, 2017; WU; BAZER; SATTERFIELD; LI *et al.*, 2013)

Segundo LUCAS (1991), qualquer tipo de estresse e/ou insulto tais como: tabagismo (REEVES; BERNSTEIN; DODDS; JENSEN *et al.*, 2008), álcool (YANG; WITKIEWICZ; OLNEY; LIU *et al.*, 2001), desnutrição (HALES, 1997), proveniente do

ambiente pode causar alterações tanto bioquímicas quanto fisiológicas, a longo prazo, que torna o organismo susceptível ao desenvolvimento de morbidades cardiovasculares.

Partido para o ponto de vista bioquímico e metabólico, a restrição proteica materna promove uma alterações no início da vida através da remodelações funcionais de vários tecidos específicos (LANGLEY-EVANS, 2009).

No rim, resultados anteriores do nosso laboratório de pesquisa (Laboratório de Bioquímica Geral Molecular e do Exercício), no Centro Acadêmico de Vitória da UFPE, mostram que a desnutrição proteica materna diminuiu a atividade da SOD e CAT, aumentou a lipoperexidação, oxidação de proteínas, deposição de colágeno e um crescimento anormal do corpúsculo renal (PEDROZA; FERREIRA; SANTANA; DA SILVA *et al.*, 2019). Além disso, a literatura aponta que o número de néfrons é reduzido pela exposição à desnutrição materna e, com o envelhecimento, os animais que expostos a uma alimentação com déficit proteico desenvolvem lesão glomerular e perda progressiva da função renal (AEBI, 1984; LANGLEY-EVANS; WELHAM; JACKSON, 1999; LANGLEY-EVANS, 2009).

Outro estudo do nosso grupo de pesquisa com protocolo semelhante de dieta também observaram danos oxidativos sistêmicos como aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e diminuição na capacidade respiratória mitocondrial no coração de ratos adultos, podendo levar a patologias cardiovasculares (NASCIMENTO; FREITAS; SILVA-FILHO; LEITE *et al.*, 2014). No pancreas, ratos machos de 3 meses de idade expostos a denustrição proteica gestacional apresentaram menor conteúdo de células β e um aumento da produção de ERO's relacionado a disfunção mitocondrial (THEYS, et al., 2011.) Já no fígado, a restrição alimentar materna afeta os níveis de taurina, de triglicerídeos e um maior acúmulo de gotícula de gorduras nos hepatócitos em comparação ao grupo controle, aumentando as chance de desenvolvimento de doença hepática gordurosa não alcoólica na prole masculina adulta (DU, *et al*. 2020). Em outro estudo experimental, foi visto que descendentes velhos de mães alimentadas com dieta pobre (6% de proteína) em proteínas no PDC, apresentaram um maior estresse oxidativo associado ao desequilíbrio de hormônios sexuais na próstata ventral, os quais poderão contribuir para desenvolvimento de câncer prostático na velhice, em comparação com o grupo controle (PORTELA, *et al*. 2021).

Esses resultados consolidam a teoria da programação fetal proposta por Barker (1990) há mais de 25 anos atrás, que usaram evidências epidemiológicas humanas para mostrar uma relação forte entre o baixo peso ao nascer, ambiente pré e pós-natal estressantes e o risco posterior de desevolvimeto de uma variedade de condições patológicas com diabetes melitus tipo II e doenças coronarianas (BARKER, 1990; BARKER, 2007; REYNOLDS, 2019).

A cerca do desenvolvimento de tais patologias, vários mecanismos foram propostos, dentre os quais o estresse oxidativo tem papel relevante. O estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio crônico entre a produção em excesso de ERO's e a sua eliminação pelo sistema antioxidante.

Os níveis elevados de ERO's por longos peridos podem causar danos oxidativos a lipídeos estruturais, proteínas e DNA. Em condições fisiológicas normais, cerca de 2% do oxigênio da respiração celular é reduzido de forma incompleta (monovalente), gerando o ânion superóxido ($O_2^{\bullet}$) (CHANCE; SIES; BOVERIS. 1979; ZOROV; JUHASZOVA; SOLLOTT. 2014). O $O_2^{\bullet}$ é precursor de outras EROS, sendo produzida principalmente na respiração celular pelos complexos I e III da candeia transportadora de elétrons (CTE) mitocondrial (ZOROV; JUHASZOVA; SOLLOTT. 2014; BOUCHEZ; DEVIN. 2019). Entretanto, as ERO's tem um palpel importante como moléculas de sinalização celular em vários processos metabólicos como na biogênese mitocondrial, morte celular e na regulação da progressão do ciclo celular (ZOROV; JUHASZOVA; SOLLOTT. 2006; VERBON; POST; BOONSTRA. 2012; ZOROV; JUHASZOVA; SOLLOTT. 2014; SIES; JONES. 2020).

Os tecidos possuem um certo nível de tolerância ao estresse oxidativo devido ao sistema antioxidante atuante, entretanto, o tecido mais vulnerável as ERO's é o SNC devido ao maior consumo de oxigênio, baixa atividade do sistema antioxidante e elevados níveis de ácidos graxos poliinsaturados que aumentam a produção das ERO's podendo comprometer funções vitais do organismo (MANSEGO *et al.*, 2011; CERETTA *et al.*, 2012). Evidências científicas com humanos e modelos experimentais mostram que a exposição do SNC ao estresse oxidativo é um dos principais mecanismos das neuropatologias tipo Alzheimer (SWOMLEY e 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

na hipertensão a ERO's pode ter um papel central na gênese dessa doença, uma vez que o tronco encefálico (TE) tem circuitos neurais responsáveis pelo controle da pressão arterial e que são influenciados pela ERO's (KISHI *et al.*, 2004; PETERSON, SHARMA, DAVISSON, 2006; NISHIHARA *et al.*, 2012; CHAN, CHAN e SIGNALING, 2014).

Dados prévios avaliando o efeito da dieta pobre em proteína durante o PCD no tronco encefálico, demonstraram que ratos de 22 dias de vida, mostrou a diminuição da atividade antioxidante da GST, do estado REDOX, em conjunto com a disfunção mitocondrial, o que potencializa o quadro de estresse oxidativo (FERREIRA; DA SILVA PEDROZA; BRAZ; DA SILVA-FILHO *et al.*, 2016).

Esses e outros dados da literatura, sugerem como ponto em comum da etiologia das doenças cardiovasculares, tanto a nível central quanto sistêmico o desequilíbrio oxidativo e a disfunção mitocondrial induzida pela restrição proteica durante o PCD (NASCIMENTO; FREITAS; SILVA-FILHO; LEITE *et al.*, 2014; DE BRITO ALVES, J. L. *et al.*, 2016; FERREIRA, D. J. S. *et al.*, 2016; FERREIRA, D. J. S. *et al.*, 2019; FERREIRA. D. J. S. *et al.* 2016).

2.2. Sistema nervoso autônomo: função, metabolismo fisiológico e bioquímico

O sistema nervoso autônomo (SNA) é uma subdivisão do sistema nervoso periférico responsável pelo controle das respostas reflexas (de natureza inconsciente) de várias funções fisiológicas vitais como: respiração, pressão arterial, frequência cardíaca, entre outras atividades que mantém homeostase orgânica (LANGLEY, 1898). O SNA é dividido em três subsistemas: sistemas simpático, parassimpático e entérico. O entérico diz respeito a ações simpáticas e parassimpática destinada ao trato ao trato gastrointestinal (ORIMO; GHEBREMEDHIN; GELPI, 2018).

O sistema nervoso simpático e o parassimpático possuem inervações aferentes e eferentes fornecendo entrada sensorial e saída motora, repectivamente, para o sistema nervoso autônomo central (KAREMAKER, 2017; STERNINI, 1997; WAXENBAUM; REDDY; VARACALLO, 2019). As sinalizações simpática e parassimpática para as saídas motoras viscerais são orquestrados em dois níveis/conjuntos de organizações neuronais interligados em série. Sistema nervoso autônomo central, diz respeito as rede neural pré-ganglionar localizado no tronco encefálico e na medula espinhal que formam

o primeiro nível organizacional (KAREMAKER, 2017; LANGLEY, 1921; ORIMO; GHEBREMEDHIN; GELPI, 2018; STERNINI, 1997; WAXENBAUM; REDDY; VARACALLO, 2019). O segundo conjunto é estruturado por corpos de neurônios pós-ganglionares que formam os gânglios autônomo onde suas fibras nervosa recobrem os órgãos vicerais, conhecidos como sistema nervoso periférico (KAREMAKER, 2017; LANGLEY, 1921; ORIMO; GHEBREMEDHIN; GELPI, 2018; STERNINI, 1997; WAXENBAUM; REDDY; VARACALLO, 2019).

2.3. Sistema nervoso autônomo central

O sistema nervoso autônomo central diz respeito a várias regiões interligadas do troco encefálico e medula espinal, que unidas estão relacionadas a diversos reflexos simpáticos e parassimpáticos (GIBBONS, 2019; LOEWY, 1990).

2.3.1. Tronco encefálico

As principais funções do TE é manter a homeostase e coordenar as respostas fisiológicas do organismo por meio das resposta do sistema nervoso simpático e parassimpático. TE é dividido em três porções: mesencéfalo, ponte e Bulbo (figura 1). Esta última está envolvida nas funções homeostáticas vitais básicas (SNELL, et al 2010).

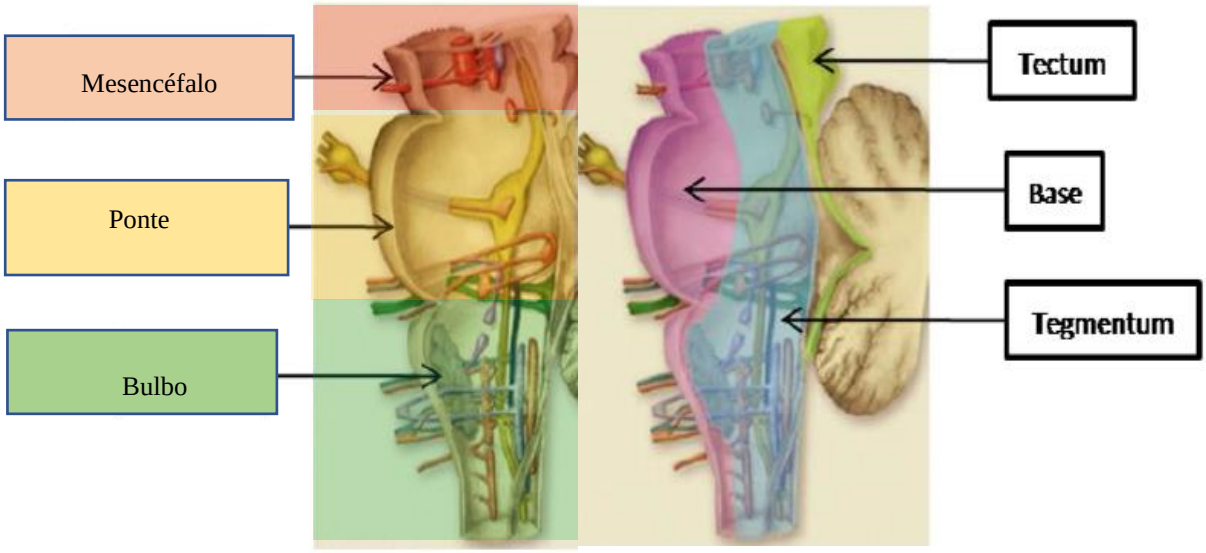

Figura 1. Divisões do tronco encefálico. Adaptado. (DE BRITO ALVES; COSTA-SILVA, 2018).

2.4. Mesencéfalo

O mesencéfalo é a parte superior do tronco cerebral e está relacionado com controle motor, regulação da temperatura, sono e vigília (MOORE; PERSAUD; TORCHIA; ÁLVAREZ, 2008; TORTORA; DERRICKSON, 2016). O mesencéfalo contém núcleos importantes, como a substância negra, onde os neurônios dopaminérgicos liberam impulsos nervosos estendendo-se até os núcleos da base para o auxílio no controle motor subconsciente (MOORE; PERSAUD; TORCHIA; ÁLVAREZ, 2008; TORTORA; DERRICKSON, 2016). Lesões ou perda desses neurônios estão associados a tremores excessivos dos membros, conhecido com doença ou mal de Parkinson (MOORE; PERSAUD; TORCHIA; ÁLVAREZ, 2008; TORTORA; DERRICKSON, 2016). Além disso, os coliculos inferiores são os principais núcleos para a via auditiva, recebe aferência do córtex auditivo e eferência dos núcleos da periferia do tronco encefálico. Os núcleos rubros também se encontram no mesencéfalo, onde os axônios do cerebelo e do córtex cerebral fazem sinapses em suas mediações auxiliando no controle dos movimentos musculares (MOORE; PERSAUD; TORCHIA; ÁLVAREZ, 2008; TORTORA; DERRICKSON, 2016) .

Por fim, dois pares de nervos cranianos possuem núcleos mesencefálicos, os nervos oculomotores e os nervos trocleares (III e IV, respectivamente) (MOORE; PERSAUD; TORCHIA; ÁLVAREZ, 2008; TORTORA; DERRICKSON, 2016). Impulsos nervosos gerados por esses pares de nervos geram o controle dos movimentos dos olhos, contração pupilar e mudanças no formato da lente ocular (MOORE; PERSAUD; TORCHIA; ÁLVAREZ, 2008; TORTORA; DERRICKSON, 2016).

2.5. Ponte

A ponte está localizada entre o mesencéfalo e a medula oblonga, anteriormente ao cerebelo. Conectando os axônios pontinos ao cerebelo, enquanto outros fazem parte de tratos motores descendentes e de tratos sensitivos ascendentes (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016). Apresenta funções na coordenação e na otimização da eficiência da atividade motora voluntária em todo corpo, mostrando ser um complexo conjunto de circuitos essenciais nesses quesitos. Na ponte também está localizado o centro respiratório pontino, que juntamente com centro respiratório bulbar auxiliam no controle respiração (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016).

Além disso, essa região possui núcleos neurais associados aos nervos: trigêmeos (V), que são responsáveis no controle da mastigação; nervos abducentes (VI), relacionados a impulsos motores que controlam os movimentos oculares; nervos faciais (VII), impulsos nervosos que controla a secreção de saliva, lágrima e a musculatura da mímica facial (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016).

2.6. Bulbo

O Bulbo é a parte mais inferior do tronco encefálico contém a substância branca onde estão todos os tratos motores e sensitivos que se projetam entre várias regiões do encéfalo e a medula espinhal. O bulbo é responsável por várias funções autonômicas básicas do SNA (WEBB, 2017).

Parte dessa substancia branca formam saliências na parte anterior da , são denominadas de pirâmides (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016). As pirâmides são formadas pelos tratos corticospinais, que passam impulsos nervosos do telencéfalo para medula espinal sendo responsáveis pelos movimentos voluntários dos quatro membros e do tronco (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016). Além disso, o bulbo possui núcleos que são essenciais para o controle das funções vitais, tais como o centro cardiovascular e o centro respiratório bulbar (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016).

No bulbo está localizado o centro respiratório e o centro cardiovascular, que regulam diversas funções, tais como regulação da frequência cardíaca, intensidade do batimento cardíaco, e a pressão arterial (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016). Já o centro respiratório bulbar é responsável pelo ritmo respiratório basal (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016). Pelo fato de apresentar funções vitais, lesões provenientes de traumatismo forte na cabeça ou na região cervical superior podem ser fatais (MOORE e PERSAUD, 2008; MENESES 2011; TORTORA e DERRICKSON; 2016).

2.7. Centro cardiovascular

A regulação neural do sistema cardiovascular é controlada pelo SNA (BLESSING, 1987; LOEWY E SPYER, 1990). A manutenção neural desse sistema envolve a ativação de grupos heterogêneos de sensores periféricos (barorreceptores, receptores cardiopulmonares e quimiorreceptores, entre outros), os quais projetam suas aferências via as estruturas do SNC, via nervo vago e glossofaríngeo para os órgãos viscerais (BLESSING, 1987; LOEWY E SPYER, 1990). Essas informações aferentes processadas no SNA culminarão na modulação das vias autonômicas eferentes, controlando as variáveis cardiovasculares na perspectiva de manter o equilíbrio dinâmico momento a momento nas diversas situações (estado de alerta ou relaxamento) comportamentais as quais os mamíferos são submetidos (BLESSING, 1987; LOEWY E SPYER, 1990). No sistema cardiovascular, as variáveis reguladas pelo SNA são a frequência cardíaca, o volume sistólico (força de contração) e a resistência periférica, as quais são determinantes da pressão arterial (BLESSING, 1987; LOEWY E SPYER, 1990).

Estudos clássicos mostraram que o núcleo do trato solitário (NTS) é composto por um aglomerado de corpos de neurônios heterógenos localizado na parte do dorso medial da MO (COTTLE, 1964; LOEWY,1990). Além disso, ele é divido em três porções: NTS comissural; NTS intermediário e NTS rostral. Sabe-se que o NTS intermediário está intimamente relacionados ao controle central das flutuações cardiovasculares em respostas dos impulsos provenientes dos barorreceptores e quimiorreceptores, utilizando o glutamato (GLU) como neurotransmissor primário, ver figura 2 (CRAVO, 2009; DALE, 2002; MACHADO, 1997). Também apresenta conexões com regiões do hipotálamo ligadas as respostas cardiovasculares de longo prazo (figura 2) e ao seguimento ventrolateral do bulbo, onde existem sítios neurais como a medula caudal ventrolateral (CVLM) e a medula rostral ventrolateral (RVLM) que fazem parte do centro vasomotor (DAMPNEY, 2002).

A CVLM está localizada na parte caudal do seguimento ventrolateral do bulbo 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).

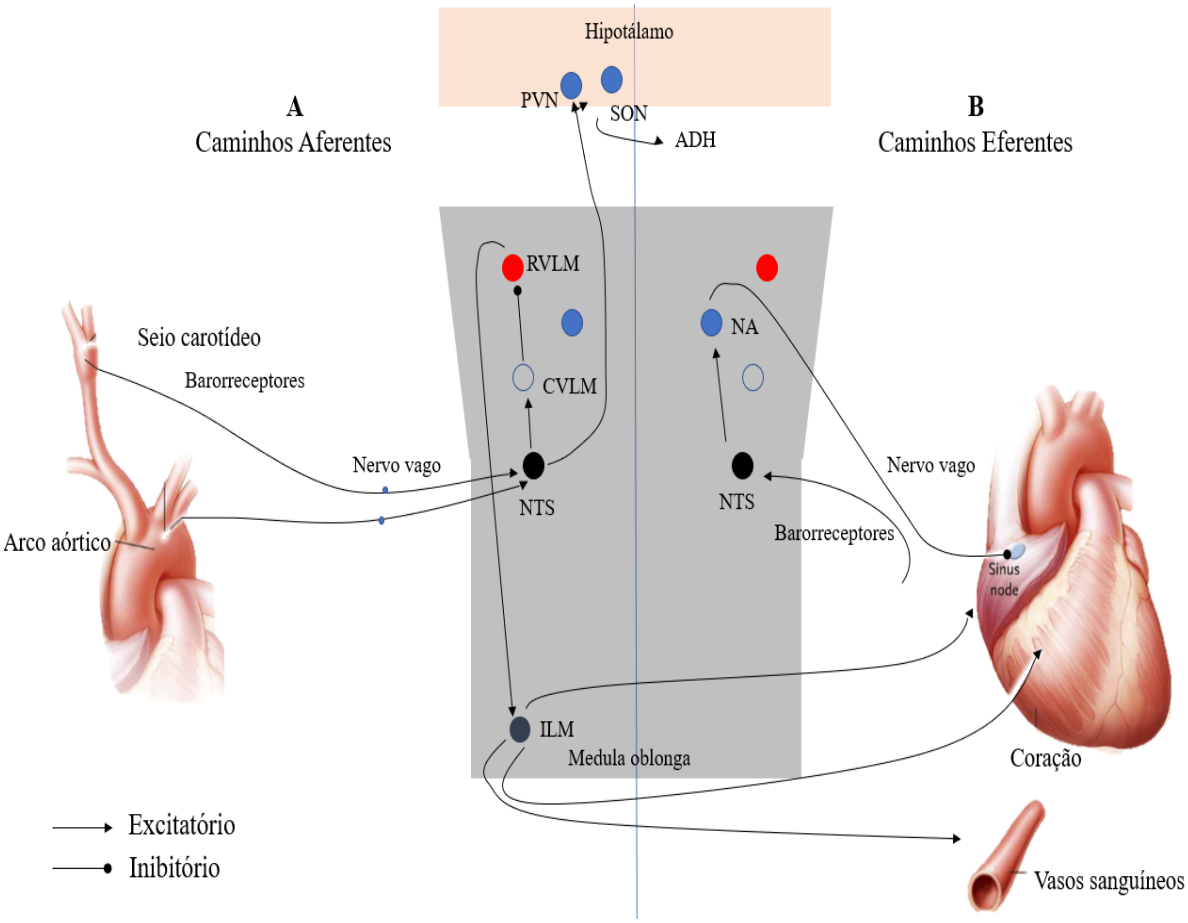

Figura 2. Rede excitatória/inibitória no tronco encefálico. Imagem A, os sinais eferentes relacionados ao controle da pressão arterial e frequência cardíaca se dão pela vasodilatação ou vasoconstricção do Arco aórtico e seio carotídeo. A vasoconstricção (hipertensão) é capitada pelos barorreceptores que mandam sinais para o NTS. O NTS estimula a CVML e o Núcleo Ambíguo (NA) que são centros inibitórios: O CVLM reduz/inibe a ação do RVLM. Os Neurônios excitatórios do RVLM projetam estimulas a medula intermediolateral (IML) que projetam os sinais simpáticos para o coração e vasos sanguíneo. Os Neurônios glutamatérgicos do NA excitados pelo NTS estimulam via nervo vago a diminuição da atividade elétrica do nodo sinusal reduzindo a frequência cardíaca. Adaptado (KASPER, 2015; RICHARD, 2001)

A RVLM é constituída por neurônios glutamatérgicos responsáveis pelo controle vasomotor instantâneo. Sua ação depende dos impulsos provenientes do CVLM que dependendo das informações transmitida pelo NTS ativado, por respostas de aumento ou diminuição da pressão no seio carotídeo e no arco aórtico (CRAVO, 2009; GUYENET, 2006). A partir desses impulsos os neurônios da RVLM projetam impulsos diretamente aos neurônios pré-sinápticos na coluna intermediolateral (ILM) localizados na coluna

vertebral projetando o fluxo simpático para vários tecidos incluindo coração e vasos sanguíneos (KASPER, 2015; RICHARD, 2001).

2.7.1. Glutamato

O glutamato (GLU) é um aminoácido não essencial que pode ser sintetizado nos terminais pré-sinápticos a partir da desaminação da glutamina sob ação da glutaminase ativada por fosfato (figura 3), também pode ser proveniente da alimentação e de outras vias, como as anapleróticas do ciclo do ácido cítrico, por meio da atividade enzimática da α-cetoaminotransferase e GLU desidrogenase (SCHOUBOE *et al.*, 1997; NELSON E COX. 2014). Sabe-se que ele é o principal neurotransmissor excitatório dos mamíferos e medeia vários processos fisiológicos voltados a plasticidade (proliferação e diferenciação celular) do SNC (DAVIES; LESTER; REYMANN; COLLINGRIDGE, 1989), como aprendizagem e memória (MELDRUM, 2000), adaptação ambiental (OZAWA *et al*., 1998), envelhecimento (SEGOVIA *et al*., 2001), proliferação e migração celular (MCDONALD E JOHSTON, 1990), ansiedade (OTTERSEN E STORM-MATHISEN, 2000). Além disso, também está envolvido em processos bioquímicos, como no metabolismo da amônia, síntese de peptídeos e proteínas, metabolismo energético (TEICHBERG, 1980).

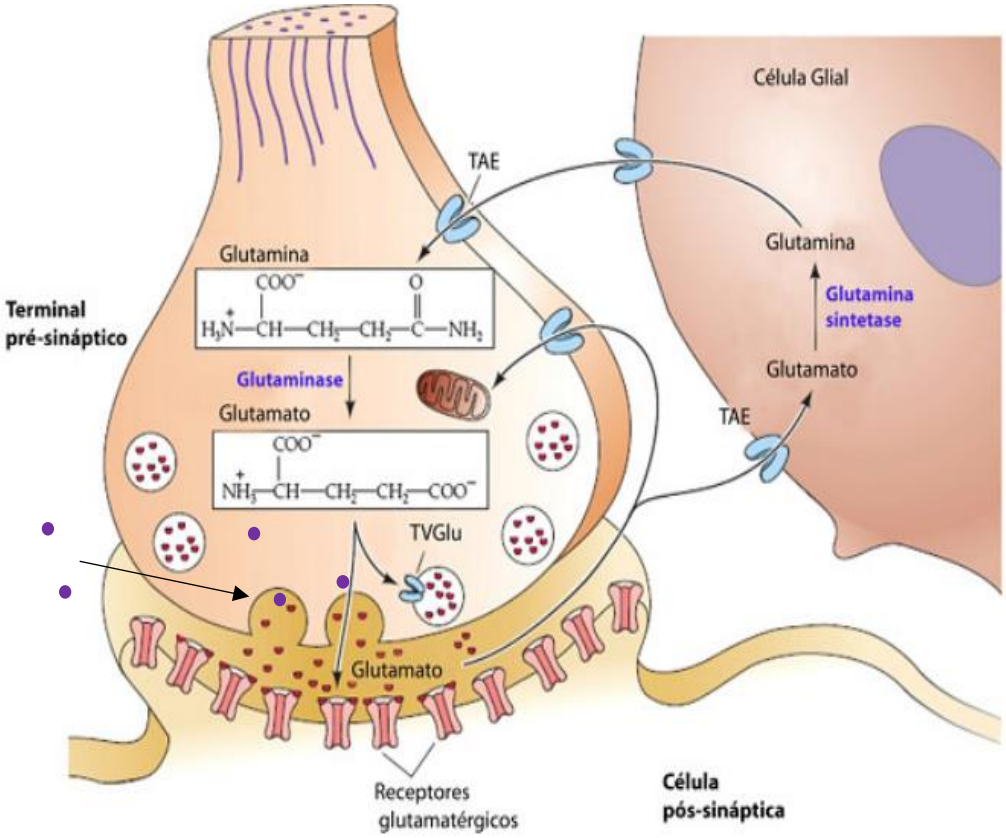

Figura3: Recaptação de glutamato na fenda sináptica. Interação metabólica entre célula da glia e neurônio glutamatérgico. A liberação do GLU é limitada por transportadores específicos para os astrócitos (célula da glia), evitando a excitotoxidade. Adapitado (RUGGIERO, et al. 2011)

Os níveis de um *pool* vesicular intracelular de GLU são altos, podendo chegar a 100 mM (NILCHOLLS E ATWELL, 1990). Sua função como neurotransmissor, ocorre nos terminais pré-sinápticos glutamatérgicos a partir de um potencial de ação cálcio (Ca^{++}) dependente de voltagem, que sinaliza o deslocamento dos transportadores de GLU vesicular (VGLUTs); ocorrendo a fusão dessas vesículas à membrana neuronal, favorecendo então a liberação do GLU por exocitose na fenda sináptica (NILCHOLLS E ATWELL, 1990). Logo em seguida a liberação do GLU, uma parte faz a sinalização nos receptores glutamatérgicos neuronais pós-sinápticos para os devidos fins evocados à célula alvo. Entretanto, a maior parte é transportada para os astrócitos por transportadores específico de GLU conhecidos como EAATs (*inglês*- excitatory amino acid transportes) (OTIS, 1997; HUANG *et al.*,2004). Esses transportadores de GLU fazem parte de uma família de proteínas transportadoras de neurotransmissores, como GLU, glicina e aspartato. Enquanto uma subclasse primária está responsável pelo transporte do GLU do

citosol para meio extracelular (VGLUTs), a outra subclasse remove o GLU da fenda-sináptica e de sítios extra sinápticos (EAATs) (GANEL E ROTHSTEIN, 1999).

No astrócito, o GLU transportado é condensado juntamente com uma molécula de NH_3 (amônia) formando a glutamina (GLN), reação catalisada pela enzima glutamina sintase (EISENBERG *et al*., 1987). Logo em seguida a GLN é transportada para a matriz extracelular que será capturada pelos neurônios pré-sinápticos e regenerado o GLU pela glutaminase, compondo o ciclo GLU-GLN (EISENBERG *et al*., 1987). Esse ciclo têm um papel fisiológico significativo no processo metabólico do GLU para a manutenção do equilíbrio dos níveis de GLU nos centros neurais. Níveis altos de GLUT por longos períodos na fenda sináptica estão associados a perda neuronal por excitotoxicidade (MELDRUM, 2000). Essa excitotoxicidade está intimamente relacionada a falhas de alguns componentes do ciclo GLU-GLN levando a neuropatologias. Estudos apontam que a disfunção ou hiperatividade dos transportadores de GLU pode estar associado a várias doenças e transtornos mentais, tais como esquizofrenia (GANEL E ROTHSTEIN, 1999), doença de Alzheirmer (YI E HAZELL,2006), doença de Huntington (YI E HAZELL,2006), esclerose lateral amiotrófica (YI E HAZELL,2006).

2.7.2. Receptores glutamatérgicos

O GLU gera suas ações excitatórias na membrana pós-sináptica através das interações com receptores específicos conhecidos como receptores glutamatérgicos (OBRENOVITCH; URENJAK, 1997). Os receptores de GLU podem ser classificados em duas famílias, os ionotrópicos (iGLUR) e os metabotrópicos (mGLUR) (HARVEY; SHAHID, 2012 REINER; LEVITZ, 2018.). A existência de uma grande variedade de receptores faz com que o neurotransmissor GLU tenha uma ampla diversidade funcional (NISWENDER E CONN, 2010).

Os mGLUR são receptores de resposta lenta, ligados a mecanismos intracelular de transdução de sinal por meio da proteína G, mediando a produção de um segundo mensageiro (NISWENDER; CONN, 2010). Eles são subdivididos em oito produtos proteicos ($mGLUR_{1-8}$) relacionados a genes diferentes, e são divididos em três grupos de acordo com a associação à proteína G e o modo de sinal de transdução propagado (NISWENDER; CONN, 2010). Os receptores do grupo I ($mGLUR_{1\ e\ 5}$) ativam a sinalização mediada por fosfolipase C ativada via subunidade Gq/Go da proteína G para

formar dois segundo mensageiros inositol-1,4,5-trifosfato e diacilgricerol (IP_3/DAG) a partir da clivagem do fosfatidil-inositol-4,5-bifosfato, enquanto os receptores do grupo II e III ($mGLUR_{2\ e\ 3}$ e $mGLUR_{4,\ 6,7\ e\ 8}$) inibem a produção do cAMP via transdução de sinal evocado pela proteína G (Gi/Go), ou seja, esses dois últimos grupos tem função de inibir/minimizar a transdução de sinal glutamatérgico (NISWENDER; CONN, 2010).

Os iGLURs são canais iônicos cátion-específicos responsáveis pela origem, disseminação e ampliação do sinal glutamatérgico (CONTMAN *et al*, 1995). Eles são subdivididos em três subtipos: o N-metail-D-aspartato (NMDA), de cainato (CA) e α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato, estes dois últimos são conhecidos como receptores não-NMDA (OZAWA *et al*, 1998).

São diversos os subtipos de NMDA, AMPA e CA, classificados de acordo com as diferentes combinações das subunidades proteicas com as quais são encontrados vários genes codificantes para tais subunidades: 4 genes GRIA que codificam genes para subunidades AMPA, 7 genes GRIN codificantes para subunidades NMDA e 5 genes GRIK codificam para subunidades Cainato (TRAYNELIS et al, 2010). De acordo com a combinação destas subunidades, os receptores possuem maior ou menor permeabilidade ao influxo de íons e, deste modo, apresentam funcionalidades distintas (BOWIE, 2008).

2.7.3. Receptores NMDA

Os receptores subtipo (rNMDA) nomeado pela sua afinidade ao N-metil-D-aspartato, são produtos proteicos compostos por três subunidades diferentes NR1-3, sendo que a combinação tradicional é de um receptor heterotetrâmero de duas subunidade NR1 e duas NR2 formando um canal iônico, compondo em maior quantidade os receptores neuronais no SNC (DINGLEDINE , BORGES , BOWIE, 1999; LAU E TYMIANSKI, 2010).

Quando o GLU se liga os domínios extracelulares da subunidade proteica NR2 do receptor NMDA, gera uma alteração conformacional liberando o íon magnésio (Mg^{2+}) dependente de voltagem, que obstrui o canal do receptor, permitindo assim o influxo de Ca^{++}e Na^{+} e efluxo de K^{+} através da membrana plasmática que na maioria das vezes leva a despolarização da célula pós-sináptica. Além do GLU, os rNMDA também requerem a

ligação simultânea da glicina auxiliando como co-agonista (DINGLEDINE, BORGES, BOWIE, 1999; MUIR, 2009; GONDA, 2012).

No citoplasma, o Ca^{++}também desempenha um importante papel como segundo mensageiro, influenciando um considerável número de funções celulares, fornecendo ajustes em processos de proliferação e sobrevivência celular, bem como na morte celular por necrose ou apoptose (ORRENIUS, ANKARCRONA, NICOTERA, 1996). As células neuronais dispõem de mecanismos homeostáticos especializados na manutenção intracelular tanto da localização dos íons Ca^{++} quanto da concentração destes, através de uma intima relação entre o influxo, efluxo, captação e armazenamento no retículo endoplasmático e mitocôndria (SATTLER E TYMIANSKI, 2000). O influxo de Ca^{++} regula a excitabilidade da membrana e a intensidade da transmissão sináptica através da ativação de cascatas de sinalização intracelular dependente de si mesmo (SATTLER E TYMIANSKI, 2000). .

Há um fenômeno fisiológico conhecido com potenciação de longa duração (LTP), que é um tipo de plasticidade sináptica caracterizado pelo aumento duradouro (horas e dias) e eficaz da propagação do potencial de ação do neurônio e ocorre em várias áreas cerebrais. Esse aumento da atividade neuronal desencadeado por um estímulo tetânico (estimulo de alta frequência, 100Hz) é precedido de vários eventos bioquímicos que pode ser dependente de rNMDA (BISS E LOMO, 1973; MCNAUGHTON., DOUGLAS E GODDARD, 1978; BLISS E COLLINGRIDGE, 1993). .

O Ca^{++} proveniente tanto do influxo via os canais iônicos quanto dos estoques intracelulares contribuem para alcançar substancialmente o nível necessário ao gatilho de início da LTP (NICOLL, KAUER E MALENKA, 1988; MALENKA, 1994). Ao longo desse processo, várias enzimas quinase tem função crucial, como a proteína quinase II dependente de C a^{++}/calmodulina (CaMKII), a proteína quinase C e (PKC) e a proteína quinase A (PKA) (NICOLL, KAUER E MALENKA, 1988; MALENKA, 1994).

A CaMKII faz parte de uma família de proteínas quinases dependentes de Ca^{++}/calmodulina (CaMKs), as quais desempenham um papel importante na ativação do LTP (CHIN E MEANS, 2000; SODERLING E STULL, 2001). As CaMKs mais investigadas e envolvida neste papel e nas funções neuronais são CaMKI, CaMKII, CaMKIV. Apesar de todas serem ativadas pelo complexo Ca^{++}/calmodulina (Ca/CaM),

cada isoforma possui mecanismo de ativação distinto (CHATILA, *et al.* 1996; TOKUMITSU, *et al* 2004). Sucintamente, a ativação da CaMKII pelo Ca/CaM permite a autofosforilação de vários resíduos de aminoácidos incluindo Thr_{286}, Thr_{305} e Thr_{306} (LISMAN E SCHULMAN, 2002; COLBRAN, 2004).

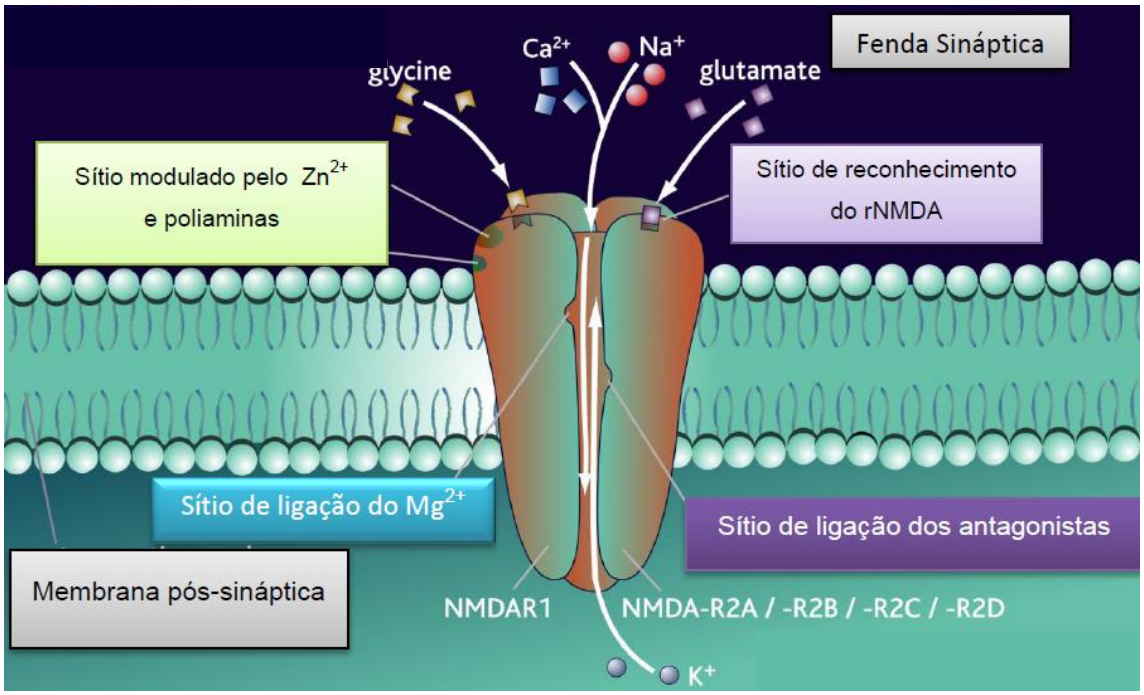

Figura 4. Receptor NMDA. Representação do mecanismo de ativação do rNMDA e seus sítios de ativação.Adaptado. (DE-SOUSA, 2013).

Níveis excessivos de GLU na fenda sináptica resultam na superestimulação do rNMDA e entrada de Ca^{++} excessiva no terminal pós-sináptico, que somadas à liberação do Ca^{++} das reservas intracelulares, elevam a concentração de Ca^{++} acima do limiar ativador de mecanismos regulatórios ativando os mecanismos intracelulares de excitotoxicidade (SATTLER E TYMIANSKI, 2000).

Alterações com maior durabilidade relacionadas à excitabilidade dos neurônios estão associadas à liberação repetida do GLU e a ativação do receptores AMPA que produz uma despolarização muito rápida da membrana pós-sináptica (milissegundos), além dos efeitos induzidos pela ativação dos receptores NMDA, que possuem uma ativação mais lenta e mais duradoura (segundos) (PISERA, 2005). Entretanto, a alta permeabilidade dos rNMDA aos íons Ca^{++} desencadeia uma ampla variação no potencial de membrana levando a potencial de longa duração (LTP) (CHIZH, 2007).

O influxo de Ca^{++} leva a uma série de cascatas moleculares de sinalização nos neurônios pós-sinápticos, como proteínas quinases, fosfatases e proteínas relacionadas genes precoces imediatos. Esses processos de fosforilação e desfosforilação é, deveras, importante na regulação da expressão dos canais dos rNMDA para garantir seu funcionamento eficiente e suficiente (SATTLER E TYMIANSKI, 2000).

Os rNMDA são modulados por uma variedade de moléculas tais como, íons de Zn^{++}, poliaminas, íons H^{+}, estado REDOX, esteroides, etanol entre outros, atuando sobre os domínios proteicos extracelulares das suas subunidades aumentando e/ou diminuindo o fluxo de Ca^{++} através do canal (GONDA, 2012). Existem vários locais, nesses receptores, para vários antagonistas não competitivos e moduladores alostéricos que exercem suas ações nesses locais. Visto que, essas moléculas também mostram forte seletividade de subunidades, são importantes ferramentas farmacológicas entre diferentes tipos de rNMDA com composição de subunidade diferente e esses agentes seletivos de subunidade também tem um importante papel como ferramentas relacionados ao tratamento de patologias comportamentais e neurodegenerativas (GONDA, 2012).

2.7.4. Receptores AMPA

Os receptores AMPA (rAMPA) são responsáveis por regular a atividade sináptica basal através da despolarização da membrana plasmática pós-sináptica induzindo a sinalização sináptica rápida, facilitando, assim, a ativação de outros canais de íons dependentes de ligantes, como, por exemplo, NMDA, ou dependentes de voltagem canal iônico por exemplo, canais para o Ca^{++} (TRAYNELIS et al., 2010). A ativação do receptor do AMPA é essencial para gerar um potencial de ação suficiente para mitigar a inibição dependente de magnésio (Mg^{2+}) do canal iônico do receptor NMDA (TRAYNELIS et al., 2010).

Quando o GLU se liga a um receptor AMPA, abre-se um canal catiônico que permite que $^{K+}$ saia e Na^{+} entre na célula. Entretanto, a força motriz gerada pelo influxo de Na^{+} é predominante, uma vez que o Na^{+} é atraído pela carga negativa e também devido o gradiente de concentração ser menor no citoplasma do neurônio pós-sináptico, resultando no potencial pós-sináptico excitatório do neurônio (EPSP) (EPSP) (SAMOILOVA, 1997).

Os rAMPA são tetrâmeros compostos por quatro subunidades distintas (GLUA1-A4) e podem assumir formas homotetramérica ou heterotetramérica (TRAYNELIS et al., 2010). As quatro subunidades dos receptores AMPA e suas isoformas mostram um padrão de distribuição no tecido cerebral, aumentando a possibilidade de receptores AMPA em várias regiões encefálicas distintas (GEIGER et al., 1995; ISA et al., 1996; XIA E ARAI, 2005). Essa distribuição em diferentes tipos de células neuronais é consistente com os dados que mostram que a ativação do receptor AMPA pode melhorar não apenas os potenciais pós-sinápticos excitatório, mas também potenciais pós-sinápticos inibitórios (XIA E ARAI, 2005).

Os rAMPA possuem quatro locais aos quais um neurotransmissor, como o GLU, e análogos a ele podem se ligar, um para cada subunidade. Amistrong *et al* (1998) sugeriu que o sitio de ligação seja formado pela cauda do terminal N e pelo laço extracelular entre os domínios transmembranares três e quatro. Quando um neurotransmissor agonista se liga, há uma alteração conformacional nesses dois domínios abrindo o poro. O canal se abre quando o neurotransmissor está acoplado aos dois sítios de ligação extracelulares, e aumenta sua corrente à medida que mais agonistas são acoplados aos sítios de ligação (ROSENMUND, STERN-BACH, STEVENS, 1998; PLATT, 2007)

Uma vez aberto, o canal pode sofrer uma dessensibilização rápida, bloqueando a corrente. Os rAMPA abrem e fecham em uma fração de segundo (1ms) e, por isso, são responsáveis pela maior parte da transmissão sináptica excitatória rápida no sistema nervoso central (PLATT, 2007).

O gene codificante da subunidade GRIA2 dos rAMPA garante a permeabilidade ao Ca^{++} e outros cátions, como sódio (Na^{+}) e potássio (K^{+}). A célula neuronal seria permeável a esses íons, ou seja, suas passagens seriam livres, se os rAMPA não possuíssem uma subunidade GRIA2 (KIM, 2001).

2.7.5. Receptores de Cainato

Os receptores de cainato (rCA) são receptores ionotrópicos responsivos ao GLU. Eles foram identificados pela primeira vez como um tipo distinto de receptor

através de sua ativação seletiva pelo agonista sintético isolado da alga vermelha *Digenea simplex* chamado de ácido caínico ou cainato (COYLE, 1987). Eles são menos estudados do que os receptores AMPA e NMDA devido à falta de fármacos para ativar ou inibi-los (LERMA E MARQUES, 2013). Os rCA pós-sinápticos estão envolvidos na neurotransmissão excitatória e também tem sido implicados na neurotransmissão inibitótoria, modulando a liberação do neurotransmissor inibitório GABA, através de um mecanismo pré-sináptico (LERMA E MARQUES, 2013).

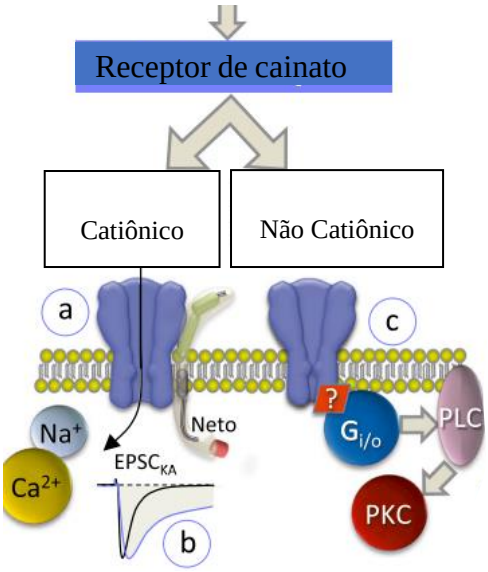

Figura 5. Receptor de Cainato. Dois caminhos diferente e independente de sinalização através do rCA Do lado esquerdo (via canônica, a) a ativação do canal é responsável pelo influxo de cátions que gera a despolarização da membrana (b) e pelas respostas sinápticas. Esses receptores suportam proteínas auxiliares, como as Neto que aumenta a afinidade do receptor com o ligante neurotransmissor. No lado direito (via não catiônica, os rCA ativam as proteínas G (c), sinalizando através da estimulação da fosfolipase C e PKC de maneira independente do fluxo de íons (Adaptado. LERMA E MARQUES, 2013)

Esses receptores tem função semelhante aos rAMPA quando relacionado a EPSP. A partir da sua ativação pelo GLU ou agonista, esses receptores abrem os poros do canal ocorrendo um influxo de Ca^{++} e Na^{+} e um efluxo de K^{+} chamado de corrente pós-sináptica excitatória (EPSC) que precede a EPSP (HUETTNER, 2003). Entretanto, a resposta sináptica desencadeada pelos rCA partilham duas características em comuns em

comparação com os rAMPA: a corrente sináptica é relativamente menor, chegando aproximadamente a 10% da corrente de pico total e a cinética de desativação é consideravelmente mais lenta (CASTILLO et al, 1997; VIGNES E COLLINGRIDGE, 1997; FRERKING, MALENKA, NICOLL, 1998).

2.8. GABA

A sigla "GABA" confere a substância química neurotransmissora chamada ácido γ-aminobutírico (ROBERTS *et al*, 1950). O GABA é considerado o principal neurotransmissor inibitório do córtex dos mamíferos, sendo responsável pela ação inibitória de 20% a 44% dos neurônios corticais humanos (DEFELIPE, 1993). O GABA é sintetizado, em sua maior parte pela descarboxilação do GLU, reação essa catalisada pela enzima descarboxilase do ácido glutâmico ou simplesmente glutamato descarboxilase (GAD - *inglês: glutamic acid decarboxylase*). A GAD é uma enzima que possui como cofator o pirodoxal fosfato (forma ativa da vitamina B6), possuindo duas isoformas bem conhecidas que a GAD67 e GAD65 codificadas pelos genes GAD1 e GAD2, respectivamente (ERLANDER *et al*, 1991). Ambas são expressas em todo SNC, no entanto, a GAD1 está localizada no citosol dos neurônios GABAérgicos, enquanto a GAD2 é amplamente expressas nas terminações pré-sinápticas (ERLANDER *et al*, 1991).

Além disso, existem estudos confirmando a presença tanto de GABA quanto GAD, em frações menores, em outras regiões periféricas como no pâncreas e nos fluidos corporais (ROBERTS, 1978, 1980, 1984). Além da GAD, existe outra enzima relacionada ao metabolismo do GABA chamada de GABA-aminotransferase (GABA-T). A GABA-T é uma aminotransferase mitocondrial responsável pela transaminação reversível do GABA com α-cetoglutarato originando succinico semialdeído e GLU respectivamente. Dessa mesma forma, a GABA-T transfere o grupamento amina para o piruvato gerando alanina e/ou transferindo da alanina para o succínico semialdeído gerando piruvato e GABA (figura 6) (BRADY, et al. 2005).

O GABA é sintetizado no citoplasma do neurônio pré-sináptico a partir do precursor glutamato. Após a síntese, é empacotado e transportado nas vesículas sinápticas pelo transportador de aminoácidos inibitório vesicular (VIAAT) (BAK; SCHOUSBOE; WAAGEPETERSEN, 2006). Os complexos de receptores solúveis da proteína de fixação de NFS (SNARE) ajudam a encaixar as vesículas na membrana plasmática da

célula. Quando um potencial de ação atinge a célula pré-sináptica, os canais para o Ca^{++} dependentes de voltagem se abrem e o Ca^{++} se liga à sinaptobrevina, o que resulta na fusão da vesícula com a membrana plasmática e libera o GABA por exorcitose na fenda sináptica, onde pode se ligar aos receptores GABA (KÖLKER, 2018). O GABA remanescente pode então ser degradado extracelularmente, ou levado de volta aos astrócitos via GAT2/3 e entrar na via GABA shunt (figura. 6) (BAK; SCHOUSBOE; WAAGEPETERSEN, 2006; DIDIASOVA; BANNING; BRENNENSTUHL; JUNG-KLAWITTER *et al.*, 2020; KÖLKER, 2018)

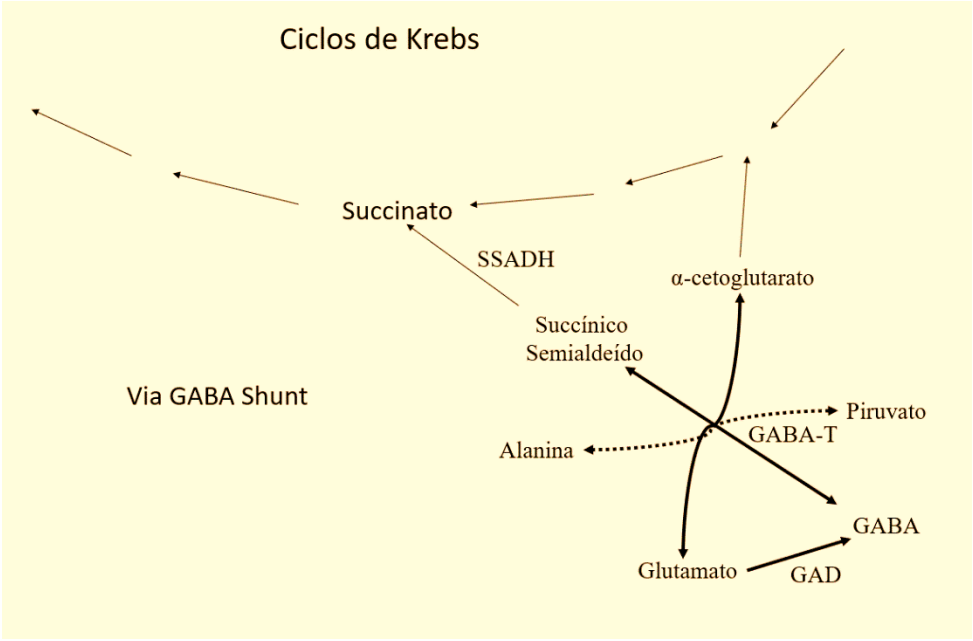

Figura 6. Via GABA Shunt. Essa mostra as vias metabólicas do GABA por meio da atividade das enzimas GAD e GABA-T que "manobram" a concentração do GABA no SNC. A GAD catalisa a descarboxilação do glutamato em GABA de forma irreversível. Já a GABA-T catalisa a transferência do grupamento amina do GABA para outros substratos intermediários do ciclo de Krebs como o α-cetoglutarato e o succínico semialdeído, que por sua vez sofre desidrogenação irreversível pela enzima succínico semialdeído desidrogenase (SSADH) formando o succinato. Adaptado. (BRADY, et al. 2005).

2.8.1. Receptores GABAérgicos

A ação inibitória gabaérgica é mediada pela interação do GABA com três tipos de receptores específicos no SNC de mamíferos: $GABA_A$, $GABA_B$, $GABA_C$. Os receptores $GABA_A$ e $GABA_C$ são ionotrópicos pertencentes a superfamília de receptores

nicotinicóides que incluem acetilcolina, glicina, nicotina, sensível a estricnina e os receptores de serotonina (5HT3) (CHEBIB *et al*, 2001; CASCIO, 2002). Esses receptores A e C são canais para o Cl^- controlados por ligante essenciais para propagação da atividade inibitória rápida gabaérgica nas sinapses neurais e neuromusculares (MACDONALD E OLSEN, 1994; RABOW et al., 1995; SIEGHART, 1995; CASCIO, 2002). Em contraste, os receptores $GABA_B$ são classificados como metabotrópicos, como membros da grande família e receptores associados a proteína G, que por sua vez, ativa a síntese de segundo mensageiro gerando o fluxo de K^+ e abertura de canais para o Ca^{++} ativando a atividade inibitória a longo prazo. (KERR E ONG, 1995; CHEBIB *et al*, 2001).

As três classes de receptores de GABA a nível bioquímico, farmacológicos e fisiológicos são todos distintos (KERR E ONG, 1995; BORMANN, 2000; CHEBIB E JOHNSTON, 2000, CHEBIB *et al*, 2001).

2.9.1.1 Receptores $GABA_A$

Os receptores do ácido γ-aminobutírico do tipo A ($rGABA_A$) sensíveis a bicuculina são os principais responsáveis das respostas neurotransmissoras inibitórias no SNC dos vertebrados (figura 7A). Estruturalmente são pentâmeros formados a partir da combinação de cinco subunidades hétero-oligoméricas compondo um complexo canal iônico transmembrana controlado por ligante (MACDONALD E OLSEN, 1994; NAYEEM *et al*., 1994; SIEGHART, 1995; JOHNSTON, 1996; WATANABE *et al*., 2002).

Esses receptores gabaérgicos apresentam uma grande variedade de isoformas devido as variedades de subunidades existentes. O $rGABA_A$ possui 16 subunidades distintas 6 α, 3 β, 3 γ, 1 δ, 1 ε, 1 θ, 1 π e 3ρ e 19 respectivos genes codificantes $GABRA_{1-6}$, $GRABRB_{1-3}$, $GABRG_{1-3}$, $GABRD_1$, $GABRE_1$, $GABR\theta_1$, $GABRP_1$ $GABRR_{1-3}$ (JOHNSON, *et al*, 1992; BARNARD, *et al*. 1998; MULLIGAN, *et al*. 2012; OLSEN E SIEGHART, 2009). Entretanto, a predominância dos $rGABA_A$ no SNC dos vertebrados são formados pelos conjuntos pentâmeros $2\alpha2\beta1\gamma$,$1\alpha2\beta2\gamma$, $2\alpha1\beta2\gamma$ (SIEGHART, 1995; BARNARD, *et al*. 1998). A composição de cada subunidade apresenta quatro domínios hidrofóbicos intermembranares (M1-M4); um extenso domino N-terminal extracelular no

domínio M1, uma alça curta intracelular conecta o domínio M1 ao M2, uma alça curta extracelular liga os dominios M2 e M3, uma alça intracelular longa faz interligação dos dominios M3 e M4 seguido de um domínio C-terminal extracelular no domínio M4 (figura 13C) (CHUANG E REDDY,2018.)

A neurotransmissão inibitória gerada em neurônios maduros é feita pela ligação do GABA ao seu sitio de ligação entre as subunidades α e β que ocasiona a abertura do poro gerando o fluxo de cloreto (Cl^-) para citoplasma neuronal (SIEGHART, 1995; WATANABE *et al*., 2002). O influxo de Cl^- para o meio intracelular neuronal acontece devido o gradiente de concentração extracelular ser muito maior que o intracelular. Isso gera a hiperpolarização da membrana do neurônio tornando-a menos reativa aos neurotransmissores excitatórios (SIEGHART, 1995; WATANABE *et al*., 2002). Entretanto, em neurônios imaturos o GABA se torna excitatório devido o gradiente eletroquímico do Cl^- ser maior no meio intracelular e a partir da interação gabaérgica, o canal de Cl^- se abre, o Cl^- sai para o meio extracelular e a membrana despolariza (BUREAU, M. *et al*, 1999; SPITZER, 2010).

Os $rGABA_A$ apresentam funções importantes e essenciais para o equilíbrio dinâmico da excitabilidade neural que é mediada pela transdução de sinal via GABA e modulação alostéricas gerada por fármacos (WATANABE *et al*., 2002).

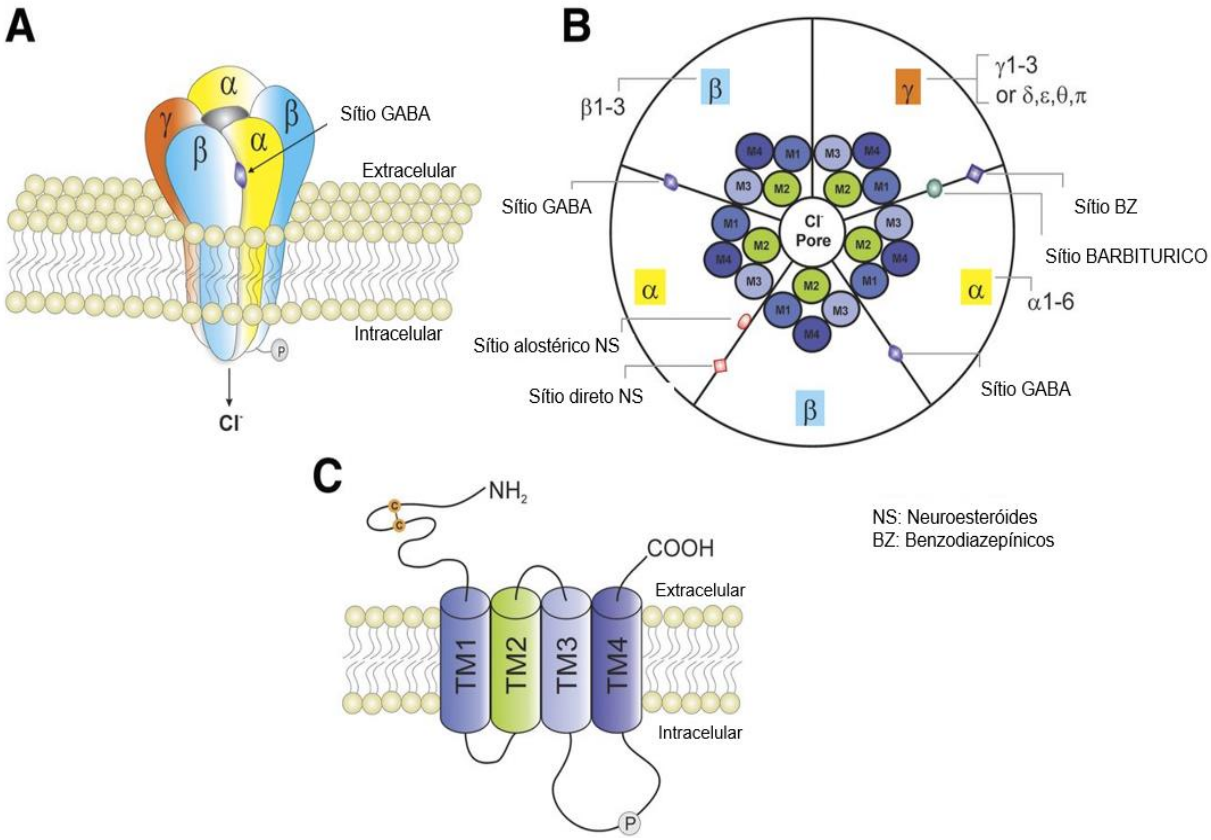

Figura 7. Esquematização da composição e estrutura do rGABAA. (A) Os $rGABA_A$ são heteropentâmeros transmembranares que se agrupam formando um canal permeável ao íon Cl^-. (B) Em uma Vista superior do arranjo pentamétrico com o poro de canal seletivo ao centro formado pelos domínios M2 de cada subunidade. (B) Vista superior das subunidades e seus domínios (M1-M4) do $rGABA_A$. Os sítios de ligação do GABA estão localizados nas junções entre as subunidades α e β. Supostamente, os neuroesteóides (NS) possuem dois sítios de ligação, um sítio alostérico na subunidade α e outro sítio direto localizado entra as subunidades α e β. A interface de ligação dos barbitúricos e benzodiazepínicos estão localizados entre as subunidades α e γ, entretanto são sítios totalmente distintos. (C) Os $rGABA_A$ são receptores membros da família Cys-loop de canais iônicos controlados por ligantes. Cada subunidade apresenta uma extensa região N-terminal no domínio M1 onde se encontra a ponte dissulfeto (principal característica da família Cys-loop) que confere os papais do receptor em função de uma variedade de drogas incluindo as supracitadas. Os dominios M1 e M2 estão conectados por uma alça intracelular curta, uma alça extra celular conecta a M2 com a M3, já a conexão da M3 a M4 é feita por uma alça longa que pode ser modulada por fosforilação e por fim, uma extremidade curta C-terminal extracelular localizada no domínio M4. Adaptado (CHUANG E REDDY,2018.)

2.9.1.2 Receptores $GABA_B$

Os receptores do ácido γ-aminobutírico do tipo B (rGABA$_B$) são receptores metabotrópicos, insensíveis a bicuculina e sensíveis a beclofeno (análogo ao GABA, que age como agonista seletivo nesse receptor), que desempenha um papel fundamental na neurotransmissão cerebral (BOWERY *et al*, 1987; CHU *et al*, 1990; WATANABE *et al*., 2002; FRANGAJ E FAN, 2018). Os rGABA$_B$ estão associados à ativação da proteína G, gerando e mantendo, de forma mais lenta (em comparação ao rGABA$_A$), as sinapses inibitórias (BOWERY, *et al.*, 2002; BETTLER, *et al.*, 2004; FRANGAJ E FAN, 2018).

Estruturalmente, os rGABA$_B$ são obrigatoriamente dímeros formados por duas subunidades distintas e com funções diferentes (JONES, *et al*., 1998; MARTIN, *et al*., 1999). A primeira, GABABR1, é responsável pelos sítios alostéricos (FRANGAJ E FAN, 2018). Já a segunda, GABABR2, está ligada a proteína G e também interage com as proteínas de domínio de tetramerização (KCTD - *inglês: potassium channel tetramerization-domain*), que são uma subfamília de canais para o potássio (K^+) e auxiliam como subunidades para o receptor GABA$_B$ modulando a atividade da proteína G (DUTHEY, *et al*., 2002; SCHWENK, *et al*., 2010; FRANGAJ E FAN, 2018). Cada subunidades do rGABA$_B$ apresentam três domínos: um domínio N-terminal extracelular de dois lobos denominado de domínio de ligação ao ligante vênus flytrap, um domínio transmembrana heptaélico e um domínio C-terminal intracelular (PADGETT E SLESINGER, 2010; CHUN, *et al.*, 2012; PAPASERGI-SCOTT, *et al.*, 2020).

O mecanismo de ativação dos rGABA$_B$ pré e pós-sinápticos se dá pela interação de agonista ao sítio de ligação ao ligante vênus flaytrap (essa denominação é relacionada a forma em que os lobos do domínio N-terminal extracelular abraça o agonista se assemelhando como a planta dionéia pega as moscas) da subunidade GABABR1 do rGABA$_B$ gerando a dimerização (GALVEZ, *et al.*, 1999; PADGETT E SLESINGER, 2010). A partir disso, o rGABA$_B$ estimula a classe de proteína G heterotretamérica (Gi/o), que por sua vez inibe a ativação da adenilato ciclase, dos canais para o Ca^{++} dependente de voltagem e também dos canais para o K^+ retificadores internos acoplados a proteína G resultando na hiperpolarização prolongada da membrana neuronal (PADGETT E SLESINGER, 2010.

A disfunção do rGABA$_B$ está relacionado a várias patologias neurais e comportamentais como a ansiedade, epilepsia, dor neuropática, entre outras (BOWERY, *et al.*, 2002; ; BETTLER, *et al.*, 2004; FROESTL, 2010; FRANGAJ E FAN, 2018).

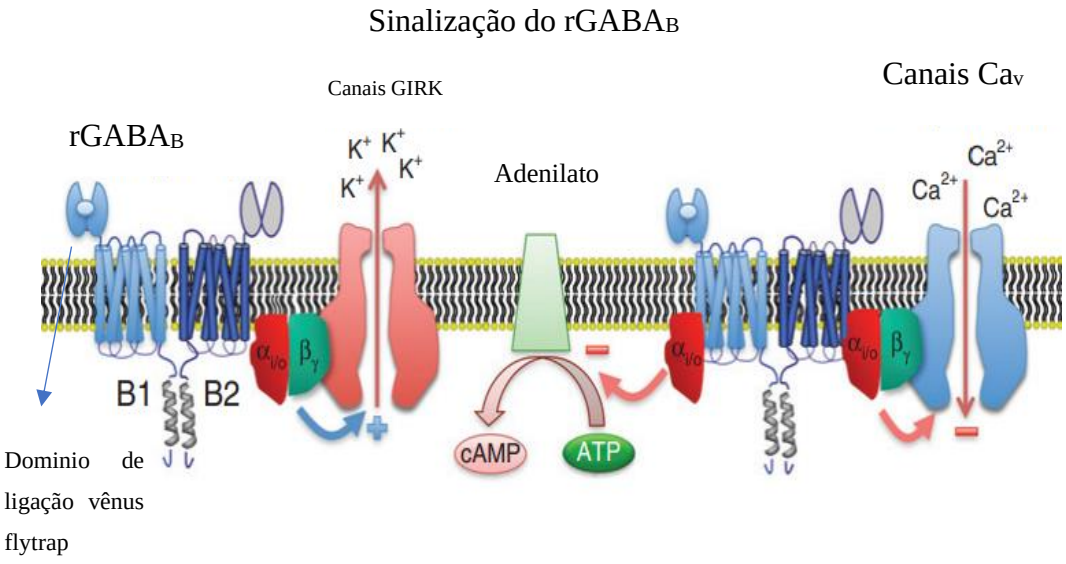

Figura 8. Ativação do receptor GABAB. O rGABAB ativa a proteína G dependende GTP (Gi/o) levando a dissociação em Gα e no dímero Gβγ. O monômero Gαi/o tem função de inibir a adenilato ciclase e o dímero Gβγ modula negativamente os canais para o Ca^{++} e também dos canais para o K^+ retificadores internos acoplados a proteína G (GIRK). Esse fenômeno gera uma hiperpolarização que leva a uma diminuição da excitabilidade do neurônio (PADGETT E SLESINGER, 2010)

2.9.1.3 Receptor $GABA_C$

Os receptores $GABA_C$ ($rGABA_C$), assim como os $rGABA_A$ são pentâmeros que formam um canal de passagem para o Cl^- formados apenas pelas subunidades ρ (ρ_{1-3}) (WATANABE *et al*., 2002; CHEBIB *et al*, 2004). Contudo, suas características das atividades cinéticas e farmacológicas são completamente distintas. São receptores insensíveis a bicuculina e beclonefo e são predominantemente expressos na retina dos vertebrados (WATANABE *et al*., 2002; CHEBIB *et al*, 2004).

A formação estrutural segue o mesmo modelo do $rGABA_A$, cada subunidades tem quatro domínios intermembrana (M1-M4), sendo que o domínio M2 de cada subunidade contribuem para formar o poro do canal (figura 9) (CHEBIB *et al*, 2004; POPOVA, 2014).

Assim com no $rGABA_A$, o mecanismo de ação é o mesmo, onde o GABA, após ser exocitado das vesículas pré-sináptica na fenda sináptica se liga ao receptor do neurônio pós-sináptico, desencadeando a abertura do canal para o Cl^- que leva ao influxo de Cl^- culminando na hiperpolarização neuronal (ENZ, 2001).

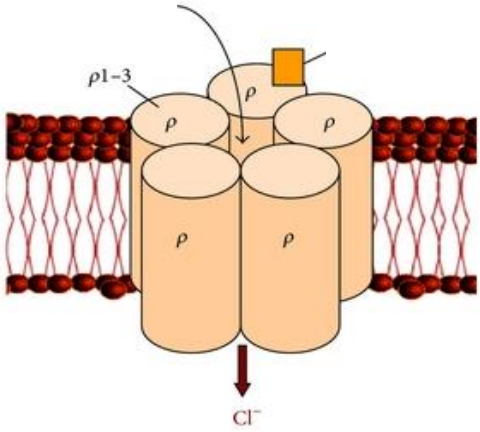

Figura 9. Esquematização do $rGABA_C$. O $rGABA_C$ é um receptor inotrópico formado por cinco subunidades ρ que se agrupam para formar um poro de passagem para o Cl^-. Os sítios de ligação do agonista (GABA) e do antagonista (picrotoxina) também são mostrados. Adaptado. (POPOVA. 2014)

2.9. Exercício físico e as modulações sobre os fatores de risco hipertensivo e de doenças cardíacas

No mundo cerca de 1,4 bilhão de pessoas não praticam qualquer tipo atividade física (GUTHOLD *et al.*, 2018). Segundo os dados recentes a WHO, mais de três quartos (81%) dos adolescentes não praticam exercício físico aeróbico, conforme as recomendações globais sobre atividade física (BULL; AL-ANSARI; BIDDLE; BORODULIN *et al.*, 2020).

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, 2017; GUTHOLD *et al.*, 2018). Dados epidemiógicos recentes mostram que no Brasil, a associação entre o comportamento sendentário e a inatividade física promove um aumento entre 60%-87% de desenvolvimento de DCs (BERTUOL; TOZETTO; STREB; DEL DUCA, 2022).

Ao que se refere o termo atividade física, podemos definir como qualquer movimento do corporal produzido pela contração muscular esquelética elevando o gasto energético acima dos níveis de repouso que compreende as tarefas de rotinas domésticas

ou ocupacionais (CASPERSEN, POWELL e CHRISTENSON, 1985). Por outro lado, o exercício físico (EF) é uma atividade física de forma sistemática, planejada e com controle das variáveis como volume, duração e intensidade as quais caracterizam o tipo do exercício físico (CASPERSEN, POWELL e CHRISTENSON, 1985).

Os benefícios do EF já estão bem estabelecidos na literatura e incluem diminuição de risco e prevalência doenças cardiovasculares, neoplasias, diabetes tipo II, doença de Parkinson, Alzheimer, entre outras (LAKKA e BOUCHARD, 2005; WARBURTON *et al.*, 2010; OLDERVOLL *et al.*, 2011; SIMIONI *et al.*, 2018). DASSNAYAKE, et al. (2022) em uma meta-análise, mostraram que a prática de atividade física e EF podem ser utilizados como modalidade para diminuir a pressão arterial em indivíduos com hipertensão resistente a valores pressóricos clinicamente significativo. Além disso, a meta-análise identificou uma possível redução de doenças cardiovasculares em até 14%, risco de acidente vascular encefálico em 20% e a mortalidade em 13% (DASSANAYAKE; SOLE; WILKINS; GRAY *et al.*, 2022).

Em relação ao estado REDOX, já é amplamente aceito que exercício físico moderado (EFM) auxilia no balanço oxidativo diminuindo o estresse oxidativo do organismo resultando em uma menor predisposição a DCs (LAKKA e BOUCHARD, 2005; RADAK *et al.*, 2013). Além disso, ERO's produzidas durante a prática do EFM são de suma importância para as modulações celulares relacionadas ao estresse oxidativo, como a biogênese mitocondrial e o aumento da atividade dos sistemas antioxidantes (LAKKA e BOUCHARD, 2005; RADAK *et al.*, 2013; WIECEK *et al.*, 2018).

Em adição, o EFM aumenta a liberação de óxido nítrico dependente de endotélio resultando em menores valores pressóricos (GOTO *et al.*, 2007), melhora a função cardiovascular (AGARWAL, 2012), melhora a resposta do sistema imune (NIEMAN, 2011), como observado no aumento da capacidade fagocitária dos neutrófilos (BRAZ; FERREIRA; PEDROZA; DA SILVA *et al.*, 2015).

Essas alterações tem uma repercussão positiva na saúde cardíaca e vascular, LACHANCE *et al.* (2009) em um estudo com ratos com insuficiência valvar aórtica grave que foram submetidos ao EFM observou um hipertrofia cardíaca fisiológica levando a uma maior sobrevida (LACHANCE *et al.*, 2009). Em adição, dados do nosso laboratório publicados recentemente mostraram que 4 semanas de EFM, 60 minutos por dia restaurou tanto o estado REDOX no ventrículo, quanto a bioenergética mitocondrial, em ratos jovens expostos a desnutrição proteica materna (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021).

Os benefícios da prática regular do EFM são inúmeros, entranto, os mecanismos pelos quais, o EFM reduz a pressão arterial não são totalmente compreendidos. Isso se deve, em grande parte, pela natureza etiológica da hipertensão ser multifatorial. Embora a dieta inadequada e o comportamento sedentário sejam fatores consideraveis, já é amplamente aceito que a desnutrição pode causar o desenvolvimento da hipertensão neurogênica, por meio de desequilíbrio oxidativo que leva a um aumento do fluxo simpático central, que por sua vez, pode causar a resistência arterial periférica (DE BRITO ALVES; COSTA-SILVA, 2018; DE BRITO ALVES; DE OLIVEIRA; FERREIRA; BARROS *et al.*, 2016; DE BRITO ALVES; NOGUEIRA; CAVALCANTI NETO; LEOPOLDINO *et al.*, 2015; FERREIRA; DA SILVA PEDROZA; BRAZ; DA SILVA-FILHO *et al.*, 2016; FERREIRA; PEDROZA; BRAZ; FERNANDES *et al.*, 2019; FERREIRA; LIU; FERNANDES; LAGRANHA, 2016).

Partindo desses pressupostos, o objetivo do presente estudo foi avaliar se o EFM reverte ou minimiza os efeitos insalubres da denutrição proteica materna em ratos machos jovens. Nossa hipótese basea-se no seguinte: O EFM praticado nas fases inicias da vida pode diminuir o estresse oxidativo, a expressão de genes relacionados aos impulsos excitatório e aumentar as expressão de gênes inibitório GABAérgicos no TE.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar o efeito do exercício físico moderado sobre o estado REDOX e a expressão de genes excitatórios glutamatérgicos e inibitórios GABAérgicos no TE de ratos machos jovens submetidos a desnutrição proteica materna.

3.2. Específicos

- **Avaliar no tronco encefálico de ratos machos juvenis sedentários e treinados:**

I. Metabolismo Oxidativo

Atividade da Citrato Sintase (CS)

II. Biomarcadores de estresse oxidativo

Peroxidação lipídica (MDA);

Oxidação proteica (Carbonilas).

III. Defesa antioxidante enzimática

Atividade da enzima antioxidante Superóxido dismutase (SOD);

Atividade da enzima antioxidante Catalase (CAT);

Atividade da enzima antioxidante Glutationa-S-transferase (GST)

IV. Defesa antioxidante não-enzimática

Quantificação do balanço REDOX - glutationa reduzida (GSH) e oxidada (GSSG);

Quantificação dos grupos tióis totais (Sulfidrilas).

V. Expressão do mRNA

- Expressão de peptideos excitatórios glutamatérgico

GRIN1 e GRIA1

- Expressão de peptídeos inibitórios GABAérgicos

GABRA1, GABRB2, GABARAPL1 e GAD2

- Expressão de componentes mitocondriais

Expressão de UCP2

3.3. Animais e dieta

Foram utilizados ratos machos da linhagem *Wistar* provenientes da colônia do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação com temperatura de 22°C ± 2, ciclo claro-escuro de 12/12 horas no Centro Acadêmico de Vitoria-UFPE. A manipulação e os cuidados

com os animais seguiram as recomendações do COBEA após a aprovação do projeto junto ao Comitê de Ética em Estudos com Animais do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (número do processo: 0060/2018).

Utilizamos 8 progenitoras (com ninhada de 8 filhotes cada), sendo que, de cada progenitora utilizamos 2 filhotes por ninhada para cada análise experimental. As progenitoras foram divididas em dois grupos de acordo com a dieta fornecida: controle (C, caseína a 17%) e desnutridas (D, caseína a 8%) (Tabela 1). Na lactação, as progenitoras continuaram recebendo dieta conforme o grupo experimental e após o desmame (21 dias de idade), todos os filhotes receberam dieta normo-proteica (NP) (Caseína 17%) para suprir todas as necessidades nutricionais durante a fase de crescimento.

Ingredientes	Quantidade*	
	8 %	17%
Caseína	88,0 g	194,0 g
Mix Vitamínico	10,0 g	10,0 g
Mix Mineral	35,0 g	35,0 g
Celulose	50,0 g	50,0 g
Bitartarato de Colina	2,5 g	2,5 g
DL-Metionina	3,0 g	3,0 g
Óleo de Soja	76,0 ml	76,0 ml
Amido de Milho	503,486 g	397,486 g
Amido Dextrinizado	132,0 g	132,0 g
Sacarose	100,0 g	100,0 g
THBT (antioxidante de gordura)	0,014 g	0,014 g

Tabela 1. Ingredientes da dieta. Quantidade para 1 kg de dieta (Reeves, 1993).

3.4. 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/mim (0,3km/h) com progressão de 1,66m/min (0,1km/h) a cada 3 minutos. A exaustão foi definida pela a incapacidade de os animais manterem o ritmo da velocidade da esteira por mais de 10 segundos (BROOKS e WHITE, 1978; CARVALHO *et al.*, 2005; MENDES *et al.*, 2013). Aos 30 dias de vida, os grupos controle (C) e desnutrido (D) foram subdivididos em não treinados (CTN e DNT) e treinados (CT e DT) sendo então submetidos a um programa de treinamento físico moderado, em esteira ergométrica para ratos (INBRAMED, classe

I, tipo B, 9015.5.x). Os ratos com 30 dias de vida iniciaram o protocolo experimental previamente publicado que consiste em 4 semanas de treino, por 5 dias/semana e 60 min/dia, a 50% da capacidade máxima (SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021).

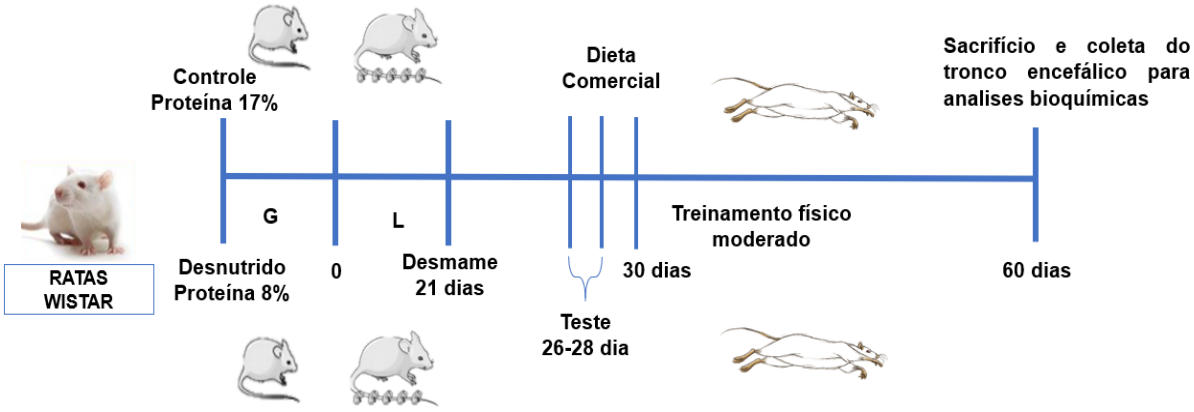

Figura 10. Ilustração do ensaio experimental. G: Gestação/L: Lactação. Adaptado. (Bernardo, E. M., 2019)

3.5. Coleta do tecido

Com aproximadamente 60 dias de vidas os animais foram sacrificados por decapitação em guilhotina, rapidamente coletado o TE e armazenando em -20ºC para análises bioquímicas.

4. ANÁLISE BIOQUÍMICA

4.1. Preparação do homogenato para as análises 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 foram centrifugadas a 4.000 rpm, a 4° C, por 10 minutos e os sobrenadantes foram submetidos à quantificação de proteína utilizando o método BRADFORD (1976).

Avaliaçao da citrato sintase

4.2. Quantificação dos níveis de peroxidação lipídica

O métotodo 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 4ºC. Na sequência, foi coletado o sobrenadante e adicionado ácido tiobarbitúrico a 0,73% em volumes iguais, seguido de fervura a 100 ° C por 15 minutos. O malonaldeído (MDA) e outros compostos liberados pela peroxidação lipídica reagem com estes reagentes produzindo uma coloração rosa e em seguida é lido no espectrofotômetro em comprimento de onda de 535 nm. Os níveis de MDA foram expressos em mmol /mg de proteína.

4.3. **Quantificação do conteúdo de carbonilas**

Foi adicionado ácido tricloroacético (TCA) a 30% as amostras (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 de 2,4-dinitrofenil-hidrazina e imediatamente colocados em uma câmara escura por 1 h de incubação. Amostras foram então lavadas, seguindo para a centrifugação. O sedimento final foi ressuspenso 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 e PACKER, 1994).

4.4. **Avaliação da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD)**

A atividade da SOD foi determinada de acordo com MISRA e FRIDOVICH (1972). Foi incubado 200 µg de proteína do TE em tampão carbonato de sódio (0,5% pH 10.2, 0.1 mM de EDTA) a 37ºC. A reação iniciou-se com adição do tampão em cubeta de vidro, amostras, 20 µl de adrenalina (diluída em ácido acético a 0.05%) e a absorbância foi lida a 480nm por espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, USA), e os resultados expressos em U/mg de proteina.

4.5. **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 (37º C) e pH, foi definido como 4,6 x 10^7. Um total de 200 µg de proteína de TE foi usado para medir a atividade da catalase. Resumidamente, 0,3 M de H_2O_2 foi adicionado a uma mistura contendo aproximadamente 200 µg de proteína de TE e 50 mM de tampão fosfato

(pH7.0). A absorvância foi medida a 240 nm durante 1 min (AEBI, 1984), e os resultados expressos em U/min.

4.6. Avaliação da atividade enzimática Glutationa-s-tranferase (GST)

Um total de 200 μg de proteina do TE 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 TE após a adição de 1 mM de 1-cloro-2,4- dinitrobenzeno (CDNB) e 1 mM de glutationa reduzida (GSH), e a absorbância foi medida a 340 nm. A atividade de GST foi definida como a quantidade de proteína necessária para formar um μmol de 2,4-Dinitrofenil-S-glutationa (DNP-SG), e os resultados expressos em U/min.

4.7. Quantificação do balanço redox (GSH/GSSG)

Para avaliação dos níveis de GSH, uma alíquota do homogenato (200μg) 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 foram 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 foram utilizados para determinar os níveis de GSSG. A intensidade de fluorescência foi 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 μM). O estado REDOX foi determinado pela razão de GSH/GSSG (HISSIN; HILF, 976).

4.8. Quantificação de grupamentos tióis totais (sulfidrilas)

As alíquotas do homogenato de TE (200μg) 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 foi completado com tampão de extração pH 7,4. A absorbância foi lida a um comprimento de onda de 412 nm em espectrofotômetro e os resultados foram expressos em mmol/mg proteína ELLMAN (1959).

4.9. Avaliação de mRNA

O RNA total do TE foi obtido utilizando o reagente TRIzol e o método de extração foi o de isotiocianato de guanidina de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). Em seguida, os pellets de RNA foram lavados em etanol a 75% e centrifugados a 7.500 xg por 5 min a 4 ºC, secos ao ar e dissolvidos em água ultrapura tratada com dietilpirocarbonato, livre de Rnase (DEPC). A quantificação do RNA foi realizada usando um espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, EUA), e a pureza foi avaliada usando a razão de absorbância 260/280nm. Em seguida, as reações foram realizadas em 25 µl de uma mistura contendo RNA, sequência de primers (sense e antisense), água DEPC e mistura de SYBR green (dNTP, tampão de reação, Taq DNA polimerase e SYBER Green I) (Invitrogen, Califórnia, EUA). A avaliação foi realizada pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak e Schmittgen, 2001; Pfaffl, 2001), utilizando o gene β-2M como controle interno (normalizador) para normalização da expressão gênica por PCR em tempo real (Tabela 2).

Genes	Sense	Antisense
GRIN1	TACAACTGGAACCACATCATCC	TGTCATAGGACAGTTGGTCGAG
GRIA1	TGTTTGCCTACATTGGAGTGAG	GAACCACAGGCTGTTGAATATG
GABRA1	GTATGAAATCTCTAGTGCAGGAGC	GAGAAAAGTGTGGGAGAGAGGA
GAD2	GGCAGACCAACCGCAAAATC	CAATCTGCTGCTAATCCAACCAT
GABRB2	CCTAATGGGGTGCTTTGTCT	TGTGGGTCCATCTTGTTGAC
GABARAPL1	CGTGGAGAAGGCTCCTAAAG	AGAAGTAGAACTGGCCAAC
UCP2	TACTCTCCTGAAAGCCAACC	GCTGCTCATAGGTGACAAAC
B-2M	TGACCGTGATCTTTCTGGTG	ACTTGAATTTGGGGAGTTTTCTG

Tabela 2. Sequência de primers usada para realizar qRT-PCR. GRIN1: Subunidade 1 do receptor ionotrópico de glutamato tipo NMDA; GRIA1: subunidade 1 do receptor ionotrópico de glutamato do tipo AMPA: GABARA1: Subunidade alfa-1 do receptor de ácido gama-aminobutírico; GABRB2: Subunidade beta-2 do receptor do ácido gama-aminobutírico; GABARAPL1: tipo proteína associada ao receptor de ácido gama-aminobutírico; GAD2: Descarboxilase do ácido glutâmico 2; UCP2: Proteina desacopladora 2; B-2M: Beta 2-microglobulina.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados passaram pelo teste de Kolmogorv Smirnov e, uma vez que os dados confirmaram os padrões paramétricos, as comparações foram feitas utilizando a análise de variância ANOVA Two-way e o pós-teste TUKEY para comparações múltiplas. Foi adotado nível de significância de 5% ($p<0,05$) para todas as análises, sendo os resultados expressos como média ± erro e padrão da média (SEM). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software GrapPad Prism 6.0 (GraphPad Softare Inc, La Jolla, CA USA).

6. RESULTADOS

6.1. Metabolismo oxidativo

Para avaliar se o protocolo de treinamento de exercício em esteira foi eficaz no metabolismo oxidativo global na prole exposta à desnutrição proteica materna, medimos a atividade da citrato sintase (CS) nos músculos EDL (fig.11a) e Soleus (fig.11b). A CS

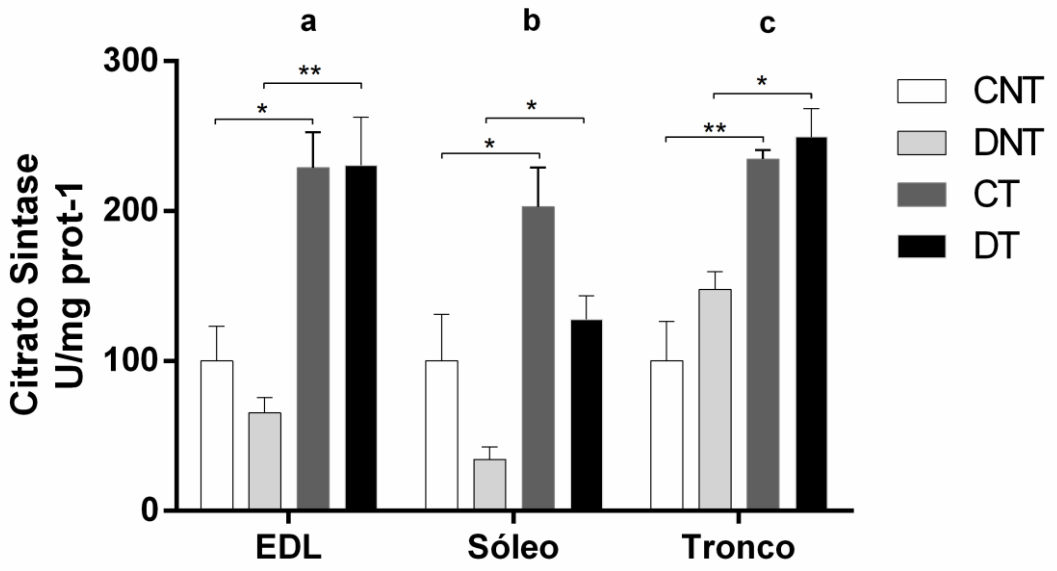

Figura 11. Avaliação da Citrato Sintase.O Efeito do treinamento físico aeróbico e da desnutrição proteica materna perinatal na atividade da citrato sintase na prole masculina adulta. a) Extensor digtorum longus – EDL; b) músculo sóleo ec) tronco encefálico. Os dados são expressos como média . ± SEM. *$p<0,05$; **$p<0,001$; n=4-5 por grupos

é a primeira enzima chave no ciclo do ácido cítrico, condensando oxalacetato com acetil-coA para formar citrato, sendo um importante marcador para o metabolismo oxidativo celular (G. Wiegand & S. J. Remington, 1986). Além dos tecidos musculares, também avaliamos a cinética no TE (fig.11c). Os dados mostram que o exercício físico aumentou a atividade da CS no EDL CNT: 100,000 ± 23,103, n=4 vs. CT: 228,862± 23,841, n=5; p=0,0136 e DNT:65,277 ± 10,269, n=4 vs. DT : 230,259 ± 32,251, n=5; p=0,0020), no sóleo (CNT: 100,000 ± 31,196, n=3 vs. CT: 202,766± 26,436, n=4; p=0,0294 e DNT: 34,326 ± 8,176 , n=4 vs. DT: 127,654± 15,716, n=4; p0,0327) e no tronco cerebral (CNT: 100,000 ± 26,276, n=4 vs. CT: 234,276± 6,690, n=4; p= 0,0013 e DNT: 147,641 ± 16,528, n=3 vs. DT: 249,366 ± 19,530, n=3; p=0,0218).

6.2. Biomarcadores de estresse oxidativo

Nossos dados demonstraram que nem restrição proteica materna (CNT: 2,42 ± 0,283, n=5 vs DNT:3,176 ± 0,065, n=6 p=0,1019) e nem o exercício (CNT: 2,42 ± 0,283, n=5 vs. CT: 1,895 ± 0,177, n=6; p=0,3402 e DNT:3,176 ± 0,065, n=6 vs. DT: 2,476 ± 0,268, n=6; p=0,1101) modularam o biomarcador de oxidação lipídica (MDA, fig.12a) no TE de ratos adultos jovens. Em relação à oxidação de proteínas (fig.12b), nossos dados demonstraram que a dieta LP aumenta a oxidação de proteínas no tronco encefálico (CNT:54,30 ± 4,81, n=5 vs DNT: 66,367 ± 3,65, n=6; p=0,0109), enquanto o EFM mostrou-se protetor tanto em animais alimentados normais quanto com baixo teor de proteína, quando comparados aos grupos treinados (CNT: 54,30 ± 4,81, n=5 vs. CT: 38,27 ± 3,47, n=4; p=0,036) e (DNT: 66,367, n=6 vs. DT: 31,46 ± 1,53, n=6; p=0,0001), respectivamente.

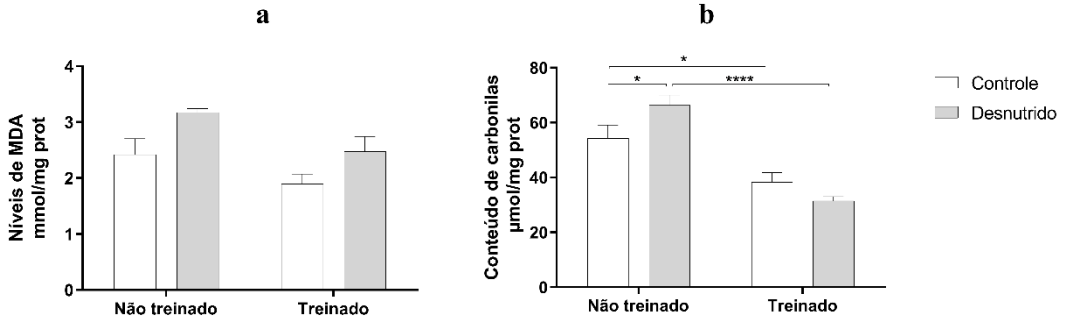

Figura 12. Biomarcadores de estresse oxidativo. Avaliação dos biomarcadores do estresse oxidativo no tronco encefálico e o efeito do treinamento físico aeróbico e desnutrição proteica materna perinatal na prole masculina adulta. a) peroxidação lipídica (Malondialdeído-MDA) e oxidação de proteínas b) (teor de carbonila). Os dados são expressos como média ± SEM. *p<0,05; ****p<0,0001; n=5-6 por grupos.

6.3. Sistema antioxidante enzimático

A defesa antioxidante enzimática "começa" com a dismutação do ânion superóxido pela SOD, que não foi alterada pela dieta materna. Curiosamente, o EFM mostrou aumentar a atividade enzimática, apenas em animais DNT, (DNT:4,48 ± 0,91, n=6 vs. DT:10,491 ± 1,097, n=7; p=0,0007) (fig.13a). Quando olhamos para a atividade da CAT (fig.13b), no entanto, a dieta materna pobre em proteínas regulou negativamente sua atividade na prole (CNT: 1,65 ± 0,11, n=4 vs DNT: 0,70 ± 0,04, n=6; p= 0,0001), em que o EFM aumentou a atividade da CAT em animais submetidos à restrição proteica materna

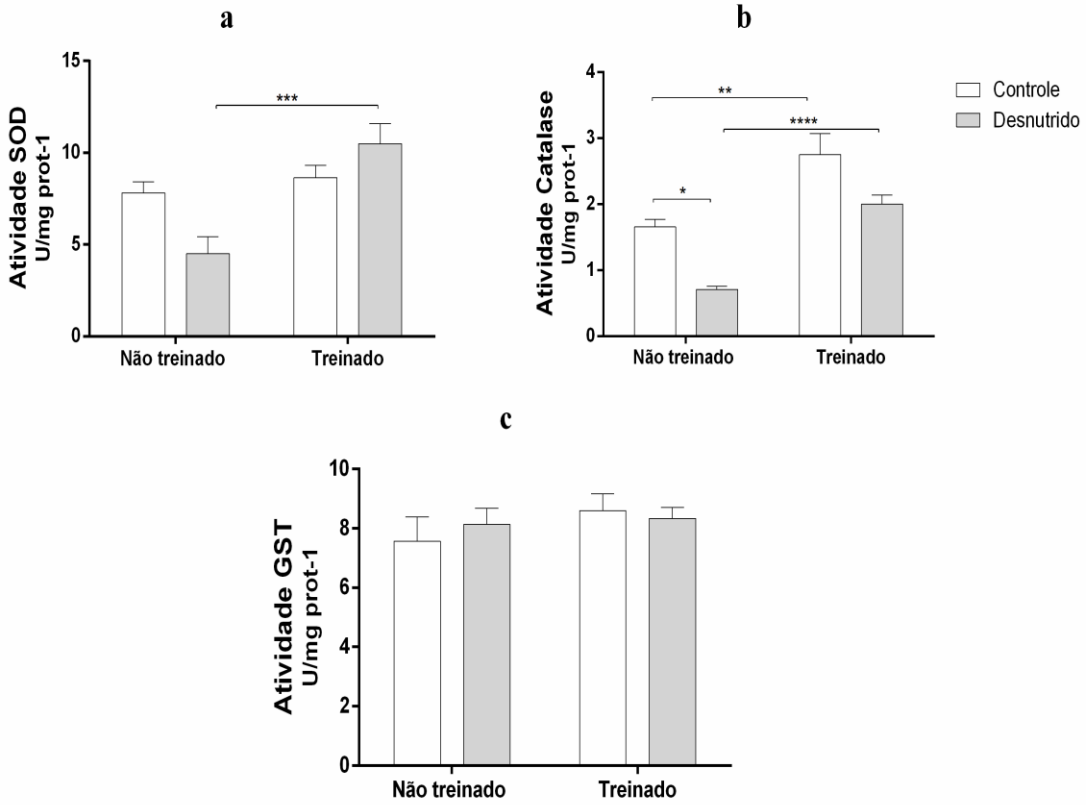

Figura 13. Sistema antioxidante enzimático. Componentes do sistema antioxidante enzimático no tronco encefálico e o efeito do treinamento físico aeróbico e desnutrição protéica materna perinatal na prole masculina adulta. a) superóxido dismutase (SOD); b) catalase (CAT) e c) Glutationa-S- transferase (GST). Os dados são expressos como média ± SEM. Os dados são expressos como média ± SEM. *p<0,05; **p≤0,005; ****p≤0,0001; n=4-7 por grupos.

(DNT0,70 ± 0,047, n=6 vs. DT:2,15 ± 0,195 n=7; p=0,0045), restaurando a remoção de H_2O_2relacionada à CAT capacidade. Ainda assim, avaliamos a atividade do GST (fig.13c), mas nenhuma diferença foi promovida pela dieta e/ou EFM.

6.4. Sistema antioxidante não enzimático

Uma defesa adicional contra o estresse oxidativo baseia-se em compostos não enzimáticos, onde o teor de sulfidrilas (grupos tióis totais, fig.14a) e a glutationa reduzida representam seus principais componentes endógenos. Aqui, a dieta materna de DNT diminui o teor de tiol (CNT:0,10 ± 0,003, n=4 vs. DNT:0,078 ±0,003, n=6; p=0,003),

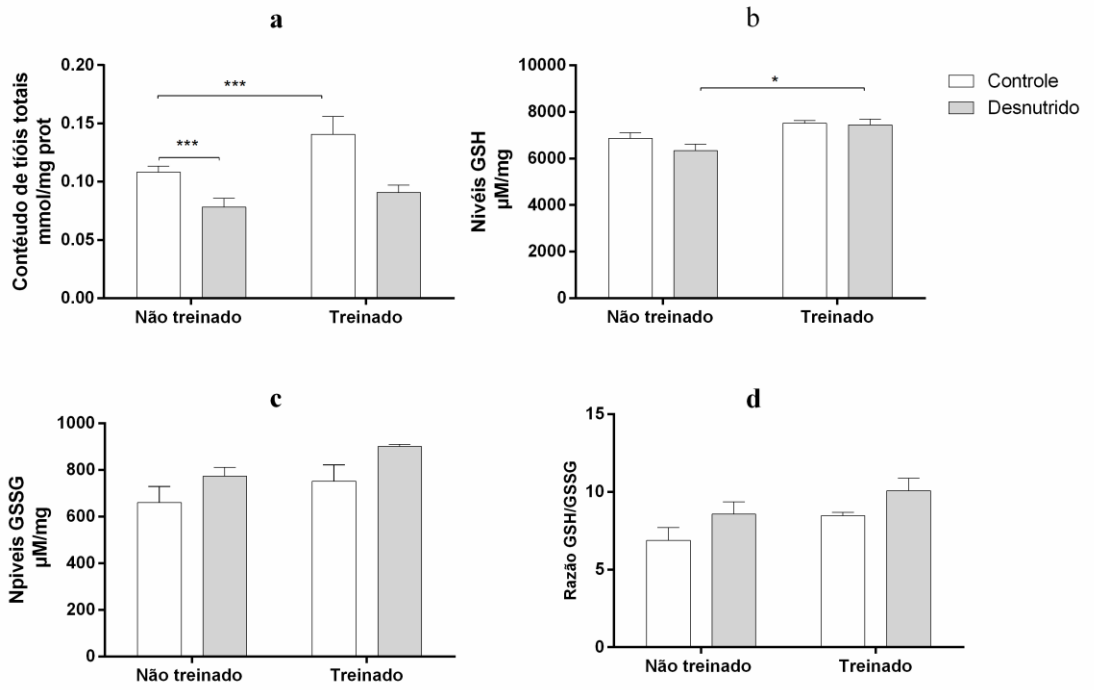

Figura 14. Sistema antioxidante não enzimático. Avaliação da atividade do antioxidante não enzimático no tronco encefálico e o efeito do treinamento físico aeróbico e desnutrição proteica materna perinatal na prole masculina adulta. (a) teor total de tiol (-SH); (b) níveis reduzidos de glutationa (GSH); (c) glutationa oxidada (GSSG) e (d) estado redox (GSSH/GSSG). Os dados são expressos como média ± SEM. Os dados são expressos como média ± SEM. *p<0,05; **p≤0,0005; ***p≤0,0001; n=4-6 por grupos.

enquanto o exercício físico aumenta suas quantidades totais em animais normoproteicos (CNT:0,108 ± 0,003, n=4 vs. CT:0,140 ± 0,008, n=4, p=0,0003) sem modulações nos animais DNT. Não foram encontradas diferenças relacionadas à intervenção dietética nos níveis de GSH (fig.14b), enquanto o exercício modulava apenas este componente celular nos animais que sofreram restrição proteica materna (LP:6.341,14 ± 282,33, n=6 vs. LPT: 7.443 ± 247,199, n=6; p=0,0109).

6.5. Avaliação da expressão gênica de ucp2

Avaliamos a transcrição gênica da proteína desacopladora mitocondrial 2 (UCP2). Nossos resultados mostram que a dieta LP materna aumentou significativamente a transcrição de UCP2 (figura 15) no TE da prole em comparação com o grupo controle

(CNT:1.000 ± 0444, n=3 vs. DNT:66.257 ± 1,164, n=3, p<0,0001). No entanto, o exercício físico reverteu a transcrição de UCP2 no tronco encefálico da prole adulta em dieta (DNT:66.257 ± 1.164 vs. DT: 2.585 ±, 0,664 n=3, p<0,0001).

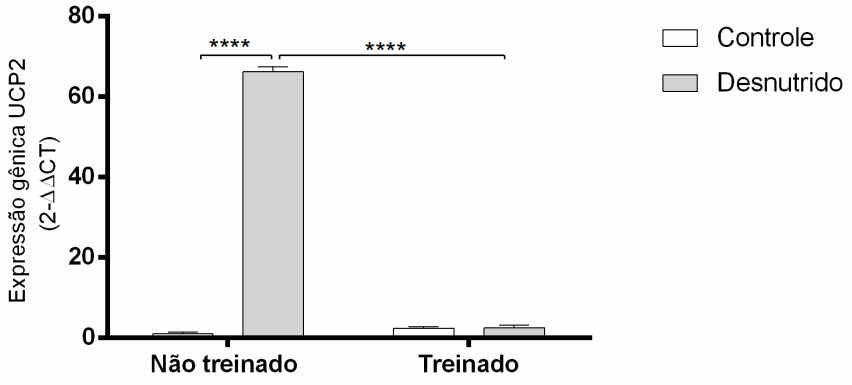

Figura 15. Expressão da UCP2. Avaliação da expressão gênica da proteína de desacoplamento mitocondrial-2, UCP2 no tronco encefálico e o efeito do treinamento físico aeróbico e desnutrição protéica materna perinatal na prole masculina adulta. Os dados são expressos como média ± SEM. Os dados são expressos como média ± SEM. *p<0,05; ****p<0,0001; n=3-5 por grupos.

6.6. Regulação transcricional da regulação excitatória e inibitória central

Ações excitatórias e inibitórias neurais são mediadas por interações entre receptores glutamatérgicos e GABAérgicos (figuras 16 e 17, respectivamente.), respectivamente. Para entender essas respostas no controle cardiovascular central diante do insulto nutricional materno, avaliamos no TE as principais subunidades dos receptores glutamatérgicos (NMDA-GRIN1 e AMPA-GRIA1), e GABAérgicos, α (GABRA1) e β (GARB2). Além disso, também foi avaliada a expressão gênica da enzima glutamato descarboxilase (GAD2), responsável pela descarboxilação do glutamato e sua transformação em GABA e a proteína associada ao receptor de ácido gama-aminobutírico tipo 1 (GABARALP1) (figura 17 c-d).

Nossos resultados mostraram que a restrição proteica materna não alterou a expressão gênica de receptores glutamatérgicos (figura 16 a-b), GRIN1 (NP:1.000 ± 0,353, n=4 vs. LP:0,138 ± 0,091, n=4, p=0,2864) e GRIA1 (NP:1.000 ± 0470, n=4 vs.

LP:1,834±1,80, n=3, p=0,895), enquanto o exercício físico regulou suas expressões GRIN1 (LP:0,138±0,091, n=4 vs. LPT:5,398±0,645, n=3, p<0,0001) e GRIA1 (LP:1,834±1,80, n=3 vs LPT: 7,781±1,386, p=0,0053).

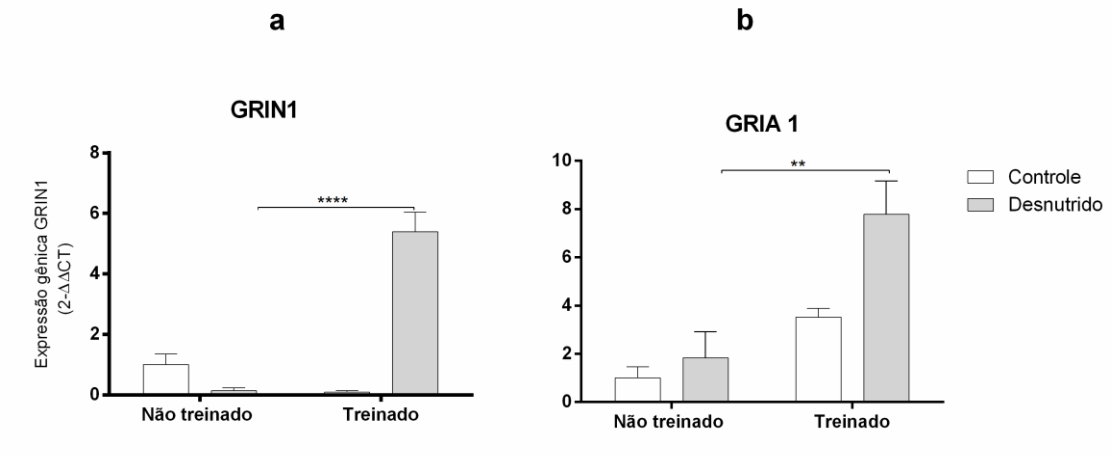

Figura 16. Expressão dos genes excitatórios. Avaliação da expressão gênica da rede neural excitatória glutamatérgica no tronco encefálico e o efeito do treinamento físico aeróbico e desnutrição proteica materna perinatal na prole masculina adulta. a) GRIN1 e b) GRIA1. Os dados são expressos como média ± SEM. Os dados são expressos como média ± SEM. *p<0,05; **p≤0,0005; ****p≤0,0001; n=3-5 por grupos.

Por outro lado, nossos dados demonstram que apenas animais normoproteicos sofreram a modulação do exercício na expressão de genes de receptores GABAérgicos (fig.17a-b), que foram supra-regulados, GABRA1 (NP:1,00 ± 0,959, n=3 vs. NPT:8,249 ± 1,840, n=4, p=0,0086) e GABRB2 (CNT: 1,000 ± 2,043, n=3 vs. CT: 25,71 ± 2,11, n=5, p<0,0001) . Da mesma forma, GAD2 (figura 17c) apresentou uma regulação positiva cogente quando comparado ao seu grupo controle (CNT:1,00 ± 0,510, n=6 vs CT:35,605 ± 1,934, n=5, p<0,0001). Em contraste, GABARAPL1 (figura 17d) foi regulado positivamente no grupo LPT em comparação com o LP (DNT:0,342±0,069, n=3 vs DT: 1,117±0,213, n=4 p=0,0351).

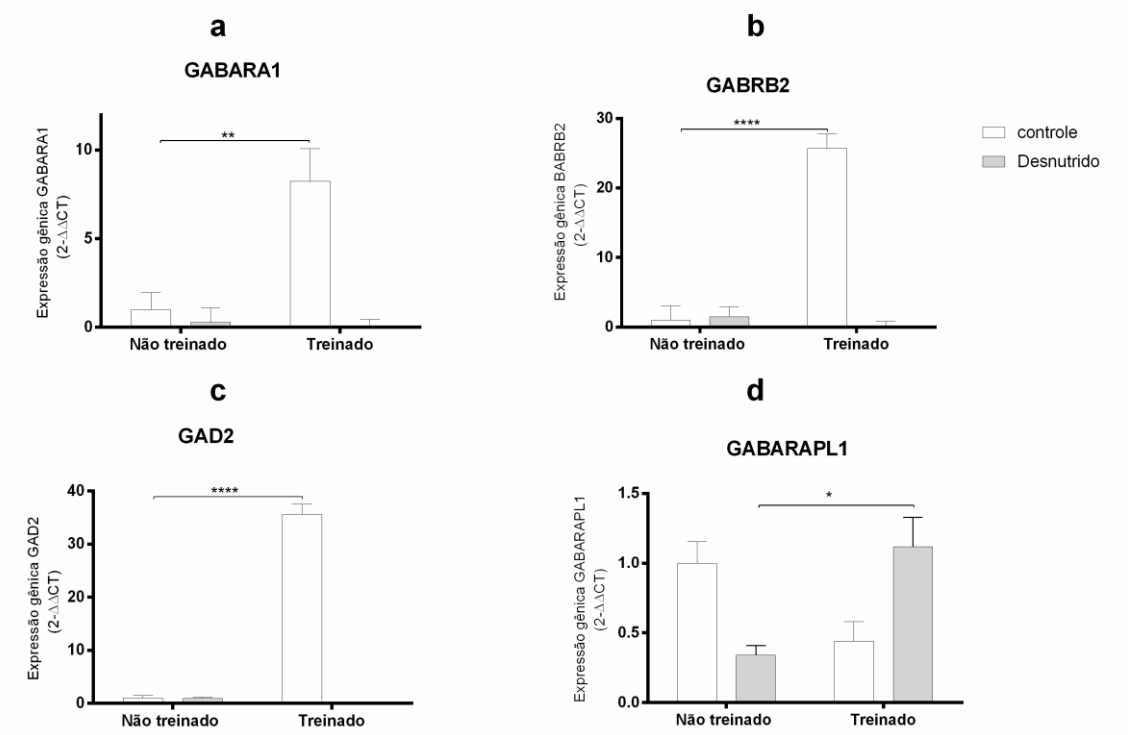

Figura 17. Expressão dos gênes inibitórios GABAergicos. Avaliação da expressão gênica da rede neural inibitória GABAérgica no tronco encefálico e o efeito do treinamento físico aeróbico e desnutrição proteica materna perinatal na prole masculina adulta. a) GABARA1, b) GABR2, c)GAD2; d)GBARAPL1. Os dados são expressos como média ± SEM. *p<0,05; **p≤0,0005; ****p≤0,0001; n=3-5 por grupos.

7. DISCUSSÃO

O intuito do presente trabalho foi investigar os efeitos de 4 semanas de exercício físico moderado sobre estado REDOX, bem como na sinalização glutamatérgica excitatória e GABaérgica inibitória do TE de ratos machos jovens submetido à desnutrição proteica materna. De forma resumida, nosso estudo mostrou que o exercício físico moderado atuou como uma intervenção confiável contra os efeitos deletérios da desnutrição durante o período crítico do desenvolvimento.

A princípio, a desnutrição proteica materna altera o metabolismo oxidativo. Os déficits do ciclo de Krebs diminuem a produção de coenzimas reduzidas (NADH e FADH2), concomitantemente, reduzem a atividade de CTE e a produção de ATP pela fosforilação oxidativa, o que pode afetar o ΔΨm (YOUNG; HIVERT; ALHASSAN; CAMHI *et al.*). Embora nosso resultado da atividade da citrato sintase tenha mostrado apenas uma tendência de diminuir o metabolismo oxidativo, dados anteriores mostram

um déficit no metabolismo energético devido a redução da atividade do CS em diferentes idades, tanto no tronco encefálico quanto em outros tecidos como coração, sóleo e músculos EDL de animais que foram expostos à desnutrição proteica materna (FERREIRA; DA SILVA PEDROZA; BRAZ; DA SILVA-FILHO *et al.*, 2016; SILVA PEDROZA; BERNARDO; PEREIRA; ANDRADE SILVA *et al.*, 2021; ZOU; YU; YU; MAO *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, o nosso grupo de pesquisa observou um quadro de estresse oxidativo no TE de animais com 100, 122 e 150 dias vida, aumentado e redução dos déficits antioxidantes enzimáticos (GPx, GR, SOD, CAT) e um comprometimento da função mitocondrial em função da restrição proteica materna (FERREIRA; LIU; FERNANDES; LAGRANHA, 2016). No presente estudo, não identificamos diferenças nos níveis de MDA no tronco encefálico entre os grupos controle. Acreditamos que essa diferença entre nossos dados e dados prévios do laboratório esteja associada à idade (60 vs. 100 dias) e também ao teste estatístico aplicado (anova 2-way vs. Test-t).

Em relação as enzimas antioxidantes, a atividade das enzimas SOD e CAT convergem para minimizar e neutralizar o potencial efeito deletério do ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$). A SOD converte $O_2^{\bullet-}$ em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) por dismutação e CAT converte H_2O_2 em O_2 e água (POOLE, 2015; TRUJILLO; ALVAREZ; RADI, 2016). A desnutrição proteica reduziu a atividade da CAT em animais LP (fig.13b), sugerindo maior teor H_2O_2 de no tronco encefálico.

A redução da atividade da CAT pode estar relacionada a distúrbios na resposta, barorreflexo, FC e pressão arterial, como visto acima (MISRA; FRIDOVICH, 1972; POOLE, 2015; TRUJILLO; ALVAREZ; RADI, 2016). No entanto, o H_2O_2 é pouco reativo comparado a outras EROs, porém, essa molécula possui meia-vida longa e pode reagir com íons metálicos (reação de Fenton) e produzir o radical hidroxila (OH●) que é potencialmente mais reativo que o $O_2^{\bullet-}$ (AGUIAR JR; STRAGIER; DA LUZ SCHEFFER; REMOR *et al.*, 2014). Quando intervimos com o programa de exercícios físicos moderado nos animais expostos à desnutrição, observamos aumento da atividade de SOD e CAT, sugerindo um potencial efeito modulador do exercício físico sobre os níveis de antioxidante celular.

Sabe-se que a produção de ERO's pelas mitocôndrias, em nível fisiológico, é de fundamental importância para a sinalização celular (AGUIAR JR; STRAGIER; DA LUZ SCHEFFER; REMOR *et al.*, 2014; FRIDOVICH, 1989; 1999). No entanto, concentrações excessivas de ERO's no SNC estão relacionadas a vários distúrbios, como doença de Alzheimer, doença de Parkinson, incluindo hipertensão neurogênica (CHAN; WU; WU; HO *et al.*, 2009; FLORENCE, 1984; HASPULA; CLARK, 2018). Com relação à bioenergética mitocondrial, avaliamos o mRNA de UCP2. Em condições fisiológicas funcionais, a maior parte do fluxo de prótons gerado pelo gradiente eletroquímico do espaço intermembranar para a matriz mitocondrial através da ATP sintase, gera força protomotora suficiente para a produção de ATP. No entanto, o desacoplamento mitocondrial está relacionado à força motriz do próton pelas UCPs, dissipando a energia na forma de calor (NICHOLLS, 1974; NOBES; BROWN; OLIVE; BRAND, 1990). Nossos resultados mostram um aumento na expressa de UCP2 que sugere um vigoroso desacoplamento mitocondrial gerado pela desnutrição que também foi observado por Ferreira et al. (2019) no TE de animais aos 150 dias de vida (FERREIRA; PEDROZA; BRAZ; FERNANDES *et al.*, 2019). Além disso, eles também observaram uma menor condutância de prótons gerada pelo potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi m$) confirmando o desacoplamento mitocondrial, sugerindo comprometimento da bioenergética mitocondrial (FERREIRA; PEDROZA; BRAZ; FERNANDES *et al.*, 2019).

Pesquisas apontam que altos níveis de $O_2^{\bullet-}$ aumenta a expressão de UCP2 com a p38MAPK como um regulador chave dependente do ânion superóxido (COSTA-SILVA; SIMOES-ALVES; FERNANDES, 2016; MURPHY; ECHTAY; BLAIKIE; ASIN-CAYUELA *et al.*, 2003). Além disso, o UCP2 está intimamente relacionado ao controle da produção de EROs mitocondriais e é considerado um antioxidante mitocondrial natural (COSTA-SILVA; SIMOES-ALVES; FERNANDES, 2016; FAHN; COHEN, 1992; MURPHY; ECHTAY; BLAIKIE; ASIN-CAYUELA *et al.*, 2003). Esses resultados nos dão a noção de que a superexpressão de UCP2 gerada pela desnutrição é uma resposta neuroprotetora compensatória para reduzir a alta produção de $O_2^{\bullet-}$, o que pode ser a justificativa para o resultado da peroxidação lipídica não ter apresentado diferença significativa. No entanto, este efeito benéfico da UCP2 é uma "faca de dois gumes", uma vez que o desacoplamento mitocondrial gera uma diminuição do potencial $\Delta\Psi m$, levando

ao comprometimento da função mitocondrial (POOLE, 2015; TRUJILLO; ALVAREZ; RADI, 2016).

Em contraste, o EFM reduziu a expressão de UCP2 para níveis fisiológicos normais. Uma explicação lógica para isso seria o aumento da atividade da SOD que reduz os níveis de $O_2^{\bullet-}$, esta evidência sugere que o exercício físico reverteu o desacoplamento mitocondrial no troco encefálico de ratos jovens expostos à desnutrição proteica materna. Vale chamar a atenção, que estudos com modelos de patologias neurodegenerativas e exercício físico, mostram que o exercício aumenta a expressão gênica de UCP2 em diferentes áreas do SNC(AGUIAR JR; STRAGIER; DA LUZ SCHEFFER; REMOR *et al.*, 2014; DIETRICH; ANDREWS; HORVATH, 2008; POOLE, 2015; TRUJILLO; ALVAREZ; RADI, 2016; WU; SUN; ZHOU; ZHU *et al.*, 2014). Esse aumento da UCP2 está relacionado como o aumento da atividade de CTE concomitante ao aumento da produção de $O_2^{\bullet-}$, que já é sabido que o exercício físico aumenta tanto a velocidade da CTE, como também aumenta a produção de ERO's. Essa regulação para cima da UCP2 pode ocorrer também através da via PGC-1α/PPARα ativada pelo exercício aeróbico (AGUIAR JR; STRAGIER; DA LUZ SCHEFFER; REMOR *et al.*, 2014). O PGC-1α ativado via exercício físico aumenta a biogênese mitocondrial, podendo aumentar assim a expressão de UCP2 (AGUIAR JR; STRAGIER; DA LUZ SCHEFFER; REMOR *et al.*, 2014).

O sistema antioxidante não enzimático também foi afetado pela desnutrição proteica materna. Os tióis totais (grupos -SH) foram reduzidos no grupo DNT em relação ao CNT (fig.14a). Os grupos -SH são representados por resíduos proteicos de cisteína, além de fornecerem a função estrutural para manter a forma quaternária funcional das proteínas, também são responsáveis pela proteção contra ERO's (sendo uma das primeiras defesas) contribuindo para o ambiente REDOX celular em equilíbrio (GILES; GILES; JACOB, 2003; HAUGAARD, 2000). Considerando que nossos resultados mostram que a desnutrição proteica potencializa o desequilíbrio REDOX favorecendo um ambiente celular citotóxico, o protocolo de treinamento físico mostra-se uma estratégia potencial para restabelecer esse equilíbrio dinâmico. Nossos resultados mostram que o exercício aumentou os níveis de GSH que é o principal tiol não proteico utilizado como cofator por várias proteínas das famílias das glutationas que são responsáveis pela desintoxicação das células neurais.

É de suma importância destacar que diversos estudos na literatura consideram o aumento do estresse oxidativo como um dos principais impulsionadores da simpatoexcitação central. O estresse oxidativo nos neurônios pré-sinápticos provavelmente altera a atividade de vários canais iônicos, contribuindo para o aumento da excitabilidade neuronal e, portanto, do tônus simpático cardiovascular (CHAO; LAI; CHAN, 2013; GAO; WANG; LIU; ZUCKER, 2007; WAFI; YU; GAO; ZUCKER, 2019).

Para entender melhor como o estresse oxidativo desencadeia a excitabilidade simpática no tronco encefálico, avaliamos a expressão de mRNA dos receptores glutamatérgicos excitatórios (GRIN1 e GRIA1) e GABAérgicos inibitórios (GABRA1 e GABR2). Além disso, também avaliamos a transcrição do GAD2 (principal enzima conversora de glutamato em GABA) nos ratos desnutridos e, posteriormente, ao exercício físico.

A reatividade das ERO's pode aumentar as entradas excitatórias glutamatérgicas e diminuir os inibidores GABAérgicos para a medula ventrolateral rostral (RVLM), onde eles presidem uma rede de neurônios pré-motores simpáticos responsáveis pelo tônus vasomotor, em ratos espontaneamente hipertensos (SHRIVASTAVA; SHRIVASTAVA), sendo um dos principais mecanismos de hipertensão neurogênica (CHAN; TAI; LI; CHAN, 2006; KISHI; HIROOKA; KIMURA; ITO *et al.*, 2004).

Embora nossos resultados mostrem que a desnutrição promove estresse oxidativo na prole adulta, o exercício físico foi capaz de reverter essa situação. No entanto, não observamos alterações nos peptídeos em mRNAs associados ao equilíbrio excitatório/inibitório no tronco da prole adulta. Curiosamente, a neuroplasticidade do exercício físico promoveu diferentes modulações entre os grupos. No grupo NPT, observou-se maior expressão gênica de receptores GABAérgicos inibitórios e da GAD2, por outro lado, favoreceu apenas a excitabilidade glutamatérgica nos animais DT.

Em contraste, as evidências mostram que o exercício físico reduz a pressão arterial, diminui o déficit cardíaco e aumenta a sensibilidade barorreflexa em vários modelos experimentais de hipertensão (CHAAR; ALVES; BATISTA JUNIOR; MICHELINI, 2015; MASSON; NAIR; SILVA SOARES; MICHELINI *et al.*, 2015; SOUSA; MAGALHAES; BEZERRA; SANTOS *et al.*, 2015).

Além disso, nós avaliamos o GABARAPL1. Os receptores de ácido gama-aminobutirocóico tipo A (GABAARs) são os principais responsáveis pela transmissão sináptica inibitória no SNC de vertebrados (FARRANT; NUSSER, 2005). Esses receptores são heteropentâmeros e pertencem à superfamília de canais iônicos controlados por ligantes (FARRANT; NUSSER, 2005; OLSEN; SIEGHART, 2009). Diversas proteínas estão associadas à regulação da síntese/degradação, transporte e ancoragem de GABAARs na membrana plasmática pós-sináptica neuronal, dentre as quais está o GABARAPL1. O GABARAPL1 pertence à família da proteína 8 relacionada à autofagia semelhante à ubiquitina (ATG8). Além das funções relacionadas à autofagia, também está envolvida no transporte e ancoragem dos receptores GABA na membrana pós-sináptica neuronal, sendo importante para transmissões inibitórias. Um estudo recente mostrou que GABARAPL1 aumentou a densidade máxima de corrente ativada por GABA em células HEK293. Além disso, eles observaram que GABARALP1 regula especificamente a posição de GABARARs através da regulação do tráfego de receptores (YE; ZOU; ZHU; KONG *et al.*, 2021).

Corroborando nosso resultado, DE BRITO ALVES; DE OLIVEIRA; FERREIRA; BARROS *et al.* (2016), utilizando protocolo de dieta semelhante ao nosso, observaram diminuição transcricional de SOD2, CAT GPx e GABARAPL1, porém sem alterações na expressão dos peptídeos excitatórios (GRIN1 e GRIA1) no tronco encefálico de ratos aos 90 dias de idade. Além desses achados disfuncionais bioquímicos centrais, eles observaram valores pressóricos mais elevados, sugerindo que o aumento pressórico seja dependente do estresse oxidativo em comparação com os normoproteicos (NP) (DE BRITO ALVES; DE OLIVEIRA; FERREIRA; BARROS *et al.*, 2016). Nossos resultados mostram que os animais DT aumentaram a transcrição de GABARAPL1. Esta descoberta pode sugerir novos insights mecanicistas sobre entradas GABAérgicas inibitórias e o desenvolvimento de hipertensão neurogênica em regiões do TE.

Já foi demostrado na literatura que as ERO's podem atuar como neuromoduladores no SNC. O H_2O_2 é um oxidante alto poder de difusão através das membranas biológicas e pode alterar na transmissão excitatória glutamatérgica. Cardoso *et al.* (2009), demonstrou que a administração de H_2O_2 e a inibição da CAT no NTS levou a bradicardia e hipotensão de ratos mostrando estar envolvido na alteração do tônus simpático vascular. Vale salientar que a excitabilidade do NTS gera excitação para

CVLM, como supracitado, que, por sua vez, leva a uma menor excitação da RVLM consequentemente redução do tônus simpático cardiovascular.

Diante disso, podemos sugerir que a desnutrição proteica materna leva a um desequilíbrio oxidativo que, por sua vez, promove um aumento da sensibilidade à transcrição do receptor glutamatérgico excitatório e atenua a inibição GABAérgica, favorecendo a hiperatividade simpática no tronco encefálico, possibilitando o desenvolvimento de um quadro hipertensivo. Diante disso, levantou-se o seguinte questionamento: essa neuroexcitabilidade causada pelo exercício físico alterará o fluxo simpático afetando os padrões hemodinâmicos em animais desnutridos? Com o presente estudo não conseguimos responder, entretanto, nosso estudo abre portas para novas investigações que cruzem esses dados moleculares com valores de pressão arterial e frequência cardíaca em animais desnutridos submetidos ao treinamento físico aeróbio na intensidade moderada em animais jovens e adultos.

8. CONCLUSÃO

Nossos resultados mostram que o exercício físico restaura o sistema antioxidante no tronco encefálico de ratos expostos à desnutrição proteica materna. Além disso, aumenta a expressão de GRIN1, GRIA2 e GABARAPL1. Esses achados podem ajudar a entender como o exercício físico moderado pode contribuir na atenuação dos danos causados pela desnutrição perinatal nos efeitos excitatórios/inibitórios centrais sobre a saúde cardiovascular na vida adulta.

9. REFERENCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, 105, p. 121-126, 1984.

AGUIAR JR, A.; STRAGIER, E.; DA LUZ SCHEFFER, D.; REMOR, A. *et al.* Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxio-depressive behavior of mice. Sant Joan D'alacant:**Neuroscience**, 271, p. 56-63, 2014.

BAK, L. K.; SCHOUSBOE, A.; WAAGEPETERSEN, H. S. The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer. Oxford: **Journal of neurochemistry**, 98, n. 3, p. 641-653, 2006.

BARKER, David J. The fetal and infant origins of adult disease. Southampton: **BMJ: British Medical Journal**, v. 301, n. 6761, p. 1111, 1990.

BARKER, D. J; OSMOND, C. Low birth weight and hypertension. Southampton: **BMJ: British Medical Journal**, 297, n. 6641, p. 134, 1988.

BARKER, D. J. The origins of the developmental origins theory. Estocolmo: **Journal of internal medicine**, 261, n. 5, p. 412-417, 2007.

BARKER, D. J. P. The developmental origins of adult disease. Columbus: **Journal of the American College of Nutrition**, 23, n. sup6, p. 588S-595S, 2004.

BENJAMIN, E. J.; MUNTNER, P.; ALONSO, A.; BITTENCOURT, M. S. *et al.* Heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American Heart Association. Philadelphia: **Circulation**, 139, n. 10, p. e56-e528, 2019.

BERTUOL, C.; TOZETTO, W. R.; STREB, A. R.; DEL DUCA, G. F. Combined relationship of physical inactivity and sedentary behaviour with the prevalence of noncommunicable chronic diseases: data from 52,675 Brazilian adults and elderly. Devon: **European Journal of Sport Science**, 22, n. 4, p. 617-626, 2022/04/03 2022.

BRAZ, G. R.; FERREIRA, D. S.; PEDROZA, A. A.; DA SILVA, A. I. *et al.* Effect of moderate exercise on peritoneal neutrophils from juvenile rats. Ottawa: **Appl Physiol Nutr Metab**, 40, n. 9, p. 959-962, Sep 2015.

BOUCHEZ, Cyrielle; DEVIN, Anne. Mitochondrial biogenesis and mitochondrial reactive oxygen species (ROS): a complex relationship regulated by the cAMP/PKA signaling pathway. Copenhague: **Cells**, v. 8, n. 4, p. 287, 2019.

BULL, F. C.; AL-ANSARI, S. S.; BIDDLE, S.; BORODULIN, K. *et al.* World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. Londres: **British journal of sports medicine**, 54, n. 24, p. 1451-1462, 2020.

CERETTA, L. B.; RÉUS, G. Z.; ABELAIRA, H. M.; JORNADA, L. K. *et al.* Increased prevalence of mood disorders and suicidal ideation in type 2 diabetic patients. Turin: **Acta diabetologica**, 49, n. 1, p. 227-234, 2012.

CHAAR, L. J.; ALVES, T. P.; BATISTA JUNIOR, A. M.; MICHELINI, L. C. Early Training-Induced Reduction of Angiotensinogen in Autonomic Areas—The Main Effect of Exercise on Brain Renin-Angiotensin System in Hypertensive Rats. São Paulo: **PLoS One**, 10, n. 9, p. e0137395, 2015.

CHAN, S. H.; TAI, M.-H.; LI, C.-Y.; CHAN, J. Y. Reduction in molecular synthesis or enzyme activity of superoxide dismutases and catalase contributes to oxidative stress and neurogenic hypertension in spontaneously hypertensive rats. Los Angeles: **Free Radical Biology and Medicine**, 40, n. 11, p. 2028-2039, 2006.

CHAN, S. H.; WU, C.-A.; WU, K. L.; HO, Y.-H. *et al.* Transcriptional upregulation of mitochondrial uncoupling protein 2 protects against oxidative stress-associated neurogenic hypertension. Philadelphia: **Circulation research**, 105, n. 9, p. 886-896, 2009.

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Birmingham: **Physiological reviews**, v. 59, n. 3, p. 527-605, 1979.

CHAO, Y.-M.; LAI, M.-D.; CHAN, J. Y. Redox-sensitive endoplasmic reticulum stress and autophagy at rostral ventrolateral medulla contribute to hypertension in spontaneously hypertensive rats. Montreal: **Hypertension**, 61, n. 6, p. 1270-1280, 2013.

COSTA-SILVA, J. H.; SIMOES-ALVES, A. C.; FERNANDES, M. P. Developmental Origins of Cardiometabolic Diseases: Role of the Maternal Diet. Litle Rock: **Front Physiol**, 7, p. 504, 2016.

DASSANAYAKE, S.; SOLE, G.; WILKINS, G.; GRAY, E. *et al.* Effectiveness of Physical Activity and Exercise on Ambulatory Blood Pressure in Adults with Resistant Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. Roma: **High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention**, p. 1-12, 2022.

DAVIES, S. N.; LESTER, R. A.; REYMANN, K. G.; COLLINGRIDGE, G. L. Temporally distinct pre-and post-synaptic mechanisms maintain long-term potentiation.London: **Nature**, 338, n. 6215, p. 500-503, 1989.

DE BRITO ALVES, J. L.; COSTA-SILVA, J. H. Maternal protein malnutrition induced-hypertension: New evidence about the autonomic and respiratory dysfunctions and epigenetic mechanisms. Hoboken: **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 45, n. 5, p. 422-429, 2018.

DE BRITO ALVES, J. L.; DE OLIVEIRA, J. M.; FERREIRA, D. J.; BARROS, M. A. d. V. *et al.* Maternal protein restriction induced-hypertension is associated to oxidative disruption at transcriptional and functional levels in the medulla oblongata. Hoboken: **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 43, n. 12, p. 1177-1184, 2016.

DE BRITO ALVES, J. L.; NOGUEIRA, V. O.; CAVALCANTI NETO, M. P.; LEOPOLDINO, A. M. *et al.* Maternal protein restriction increases respiratory and sympathetic activities and sensitizes peripheral chemoreflex in male rat offspring. Houston: **The Journal of nutrition**, 145, n. 5, p. 907-914, 2015.

DIDIASOVA, M.; BANNING, A.; BRENNENSTUHL, H.; JUNG-KLAWITTER, S. *et al.* Succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency: an update. Copenhague: **Cells**, 9, n. 2, p. 477, 2020.

DIETRICH, M. O.; ANDREWS, Z. B.; HORVATH, T. L. Exercise-induced synaptogenesis in the hippocampus is dependent on UCP2-regulated mitochondrial adaptation. Princeton: **Journal of Neuroscience**, 28, n. 42, p. 10766-10771, 2008.

FAHN, S.; COHEN, G. The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. Medford: **Annals of neurology**, 32, n. 6, p. 804-812, 1992.

FARRANT, M.; NUSSER, Z. Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA A receptors. London: **Nature Reviews Neuroscience**, 6, n. 3, p. 215-229, 2005.

FERREIRA, D. J. S.; DA SILVA PEDROZA, A. A.; BRAZ, G. R. F.; DA SILVA-FILHO, R. C. *et al.* Mitochondrial bioenergetics and oxidative status disruption in brainstem of weaned rats: Immediate response to maternal protein restriction. Gainesville: **Brain Res**, 1642, p. 553-561, Jul 1 2016.

FERREIRA, D. J. S.; PEDROZA, A. A.; BRAZ, G. R. F.; FERNANDES, M. P. *et al.* Mitochondrial dysfunction: maternal protein restriction as a trigger of reactive species overproduction and brainstem energy failure in male offspring brainstem. Memphis: **Nutr Neurosci**, 22, n. 11, p. 778-788, Nov 2019.

FERREIRA, D. S.; LIU, Y.; FERNANDES, M. P.; LAGRANHA, C. J. Perinatal low-protein diet alters brainstem antioxidant metabolism in adult offspring. Memphis: **Nutr Neurosci**, 19, n. 8, p. 369-375, Oct 2016.

FLORENCE, T. The production of hydroxyl radical from hydrogen peroxide. Bologna: **Journal of inorganic biochemistry**, 22, n. 4, p. 221-230, 1984.

FRANKLIN, B. A. *et al.* Exercise-related acute cardiovascular events and potential deleterious adaptations following long-term exercise training: placing the risks into perspective–an update: a scientific statement from the american heart association. Philadelphia: **Circulation**, 141, n. 13, p. e705-e736, 2020.

FRIDOVICH, I. Superoxide dismutases: an adaptation to a paramagnetic gas. Boston: **Journal of Biological Chemistry**, 264, n. 14, p. 7761-7764, 1989.

FRIDOVICH, I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? New York: **Annals of the New York Academy of Sciences**, 893, n. 1, p. 13-18, 1999.

GAO, L.; WANG, W.; LIU, D.; ZUCKER, I. H. Exercise training normalizes sympathetic outflow by central antioxidant mechanisms in rabbits with pacing-induced chronic heart failure. Philadelphia: **Circulation**, 115, n. 24, p. 3095-3102, 2007.

GIBBONS, C. H. Basics of autonomic nervous system function. Cambridge: **Handbook of clinical neurology**, 160, p. 407-418, 2019.

GILES, N. M.; GILES, G. I.; JACOB, C. Multiple roles of cysteine in biocatalysis. Martinsried: **Biochemical and biophysical research communications**, 300, n. 1, p. 1-4, 2003.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BEEDLE, A. S. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. Washington: **American Journal of Human Biology**, 19, n. 1, p. 1-19, 2007.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. London: **Nature Reviews Neuroscience**, 7, n. 5, p. 335-346, 2006.

HALES, C. Metabolic consequences of intrauterine growth retardation. Turin: **Acta Paediatrica**, 86, n. S423, p. 184-187, 1997.

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

HANSON, M.; GODFREY, K. M.; LILLYCROP, K. A.; BURDGE, G. C. *et al.* Developmental plasticity and developmental origins of non-communicable disease: theoretical considerations and epigenetic mechanisms. Amsterdã: **Progress in biophysics and molecular biology**, 106, n. 1, p. 272-280, 2011.

HARVEY, B. H.; SHAHID, M. Metabotropic and ionotropic glutamate receptors as neurobiological targets in anxiety and stress-related disorders: focus on pharmacology and preclinical translational models.Amsterdã: **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 100, n. 4, p. 775-800, 2012.

HASPULA, D.; CLARK, M. A. Neuroinflammation and sympathetic overactivity: mechanisms and implications in hypertension. Amsterdã: **Autonomic Neuroscience**, 210, p. 10-17, 2018.

HAUGAARD, N. Reflections on the role of the thiol group in biology. New York: **Annals of the New York Academy of Sciences**, 899, n. 1, p. 148-158, 2000.

DU, J E. *et al*. Maternal malnutrition affects hepatic metabolism through decreased hepatic taurine levels and changes in HNF4A methylation. Basileia: **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 23, p. 9060, 2020.

KAREMAKER, J. M. An introduction into autonomic nervous function. Atlanta: **Physiological measurement**, 38, n. 5, p. R89, 2017.

KISHI, T.; HIROOKA, Y.; KIMURA, Y.; ITO, K. *et al.* Increased reactive oxygen species in rostral ventrolateral medulla contribute to neural mechanisms of hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Philadelphia: **Circulation**, 109, n. 19, p. 2357-2362, May 18 2004.

KÖLKER, S. Metabolism of amino acid neurotransmitters: the synaptic disorder underlying inherited metabolic diseases. Zurique: **Journal of Inherited Metabolic Disease**, 41, n. 6, p. 1055-1063, 2018.

LANGLEY-EVANS, S. C.; WELHAM, S. J.; JACKSON, A. A. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. Amsterdã: **Life sciences**, 64, n. 11, p. 965-974, 1999.

LANGLEY-EVANS, S. C. Nutritional programming of disease: unravelling the mechanism. Hoboken: **Journal of anatomy**, 215, n. 1, p. 36-51, 2009.

LANGLEY, J. N. On the union of cranial autonomic (visceral) fibres with the nerve cells of the superior cervical ganglion. Freiburg: **The Journal of physiology**, 23, n. 3, p. 240, 1898.

LANGLEY, J. N. The autonomic nervous system. Cambridge: **Heffer & Sons**, p.50-56, 1921.

LI, C.; LI, Y.; ZHAO, Z.; LV, Y. *et al.* Aerobic exercise regulates synaptic transmission and reactive oxygen species production in the paraventricular nucleus of spontaneously hypertensive rats. Gainesville: **Brain research**, 1712, p. 82-92, 2019.

LOEWY, A. Anatomy of the autonomic nervous system: an overview. Oxford: **Central regulation of autonomic functions**, 1990.

LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. Chichester: **The childhood environment and adult disease**, 1991, p. 38-55.

LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. In: Ciba Foundation Symposium 156-The Childhood Environment and Adult Disease: The Childhood Environment and Adult Disease: Ciba Foundation Symposium 156. Chichester: **John Wiley & Sons**, Ltd., 2007. p. 38-55..

MASSON, G. S.; NAIR, A. R.; SILVA SOARES, P. P.; MICHELINI, L. C. *et al.* Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR. Nashville: **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, 309, n. 7, p. 1115-1122, 2015.

MELDRUM, B. S. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. Houston: **The Journal of nutrition**, 130, n. 4, p. 1007S-1015S, 2000.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J Biol Chem**, 247, n. 10, p. 3170-3175, May 25 1972.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in plant science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G.; ÁLVAREZ, C. M. **Embriologia clínica**. Elsevier Rio de Janeiro. 2008.

MURPHY, M. P.; ECHTAY, K. S.; BLAIKIE, F. H.; ASIN-CAYUELA, J. *et al.* Superoxide activates uncoupling proteins by generating carbon-centered radicals and initiating lipid peroxidation: studies using a mitochondria-targeted spin trap derived from α-phenyl-N-tert-butylnitrone. Boston: **Journal of Biological Chemistry**, 278, n. 49, p. 48534-48545, 2003.

NASCIMENTO, L.; FREITAS, C. M.; SILVA-FILHO, R.; LEITE, A. C. *et al*. The effect of maternal low-protein diet on the heart of adult offspring: role of mitochondria and oxidative stress. **Appl Physiol Nutr Metab**, 39, n. 8, p. 880-887, Aug 2014.

NICHOLLS, D. G. The influence of respiration and ATP hydrolysis on the proton-electrochemical gradient across the inner membrane of rat-liver mitochondria as determined by ion distribution. **European Journal of Biochemistry**, 50, n. 1, p. 305-315, 1974.

NISWENDER, C. M.; CONN, P. J. Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. **Annual review of pharmacology and toxicology**, 50, p. 295-322, 2010.

NOBES, C.; BROWN, G. C.; OLIVE, P. N.; BRAND, M. D. Non-ohmic proton conductance of the mitochondrial inner membrane in hepatocytes. Boston: **Journal of Biological Chemistry**, 265, n. 22, p. 12903-12909, 1990.

OBRENOVITCH, T. P.; URENJAK, J. Altered glutamatergic transmission in neurological disorders: from high extracellular glutamate to excessive synaptic efficacy.Austin: **Progress in neurobiology**, 51, n. 1, p. 39-87, 1997.

OLSEN, R. W.; SIEGHART, W. GABAA receptors: subtypes provide diversity of function and pharmacology. Conventry: **Neuropharmacology**, 56, n. 1, p. 141-148, 2009.

ORIMO, S.; GHEBREMEDHIN, E.; GELPI, E. Peripheral and central autonomic nervous system: does the sympathetic or parasympathetic nervous system bear the brunt of the pathology during the course of sporadic PD? New York: **Cell and tissue research**, 373, n. 1, p. 267-286, 2018.

PEDROZA, A. A. S. *et al.* A maternal low-protein diet and neonatal overnutrition result in similar changes to glomerular morphology and renal cortical oxidative stress measures in male Wistar rats. Ottawa: **Appl Physiol Nutr Metab**, 44, n. 2, p. 164-171, Feb 2019.

POOLE, L. B. The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry. Amsterdã: **Free Radical Biology and Medicine**, 80, p. 148-157, 2015.

PORTELA, L. M. F. *et al.* Increased oxidative stress and cancer biomarkers in the ventral prostate of older rats submitted to maternal malnutrition. Louisville: **Molecular and cellular endocrinology**, v. 523, p. 111148, 2021.

REEVES, S.; BERNSTEIN, I.; DODDS; JENSEN, E. *et al.* Effects of maternal tobacco-smoke exposure on fetal growth and neonatal size. London: **Expert review of obstetrics & gynecology**, 3, n. 6, p. 719-730, 2008.

REINER, Andreas; LEVITZ, Joshua. Glutamatergic signaling in the central nervous system: ionotropic and metabotropic receptors in concert. Cambridge: **Neuron**, v. 98, n. 6, p. 1080-1098, 2018.

REYNOLDS, L. P. et al. Developmental programming of fetal growth and development. Greeley: **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 35, n. 2, p. 229-247, 2019.

SHRIVASTAVA, S.; SHRIVASTAVA, P. Necessity to urgently respond to the challenge of malnutrition: World Health Organization. Adana: **Cukurova Medical Journal**, 44, n. 1, p. 303-304, 2019.

SIES, H.; JONES, D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. London: **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 21, n. 7, p. 363-383, 2020.

SILVA PEDROZA, A. A.; BERNARDO, E. M.; PEREIRA, A. R.; ANDRADE SILVA, S. C. *et al.* Moderate offspring exercise offsets the harmful effects of maternal protein deprivation on mitochondrial function and oxidative balance by modulating sirtuins.Napoli: **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, 31, n. 5, p. 1622-1634, May 6 2021.

SNELL, Richard S. Philadelphia: **Clinical neuroanatomy**. Lippincott Williams & Wilkins, 7th ed, p. 1-4, 2010.

SOUSA, L.; MAGALHAES, W.; BEZERRA, F.; SANTOS, R. *et al.* Exercise training restores oxidative stress and nitric oxide synthases in the rostral ventrolateral medulla of renovascular hypertensive rats. London: **Free radical research**, 49, n. 11, p. 1335-1343, 2015.

STERNINI, C. Organization of the peripheral nervous system: autonomic and sensory ganglia. Bethesda, **J Investig Dermatol Symp Proc** Vol. 2, n.1, 1-7, 1997.

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

THEYS, Nicolas et al. Maternal malnutrition programs pancreatic islet mitochondrial dysfunction in the adult offspring. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 22, n. 10, p. 985-994, 2011.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Corpo Humano-: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. Artmed Editora, 2016. 8582713649.

TREMBLAY, M. S.; AUBERT, S.; BARNES, J. D.; SAUNDERS, T. J. *et al.* SBRN terminology consensus project participants. Sedentary Behavior Research Network (SBRN)-terminology consensus project process and outcome. Nevada, **Int J Behav Nutr Phys Act**, 14, n. 1, p. 75, 2017.

TRUJILLO, M.; ALVAREZ, B.; RADI, R. One-and two-electron oxidation of thiols: mechanisms, kinetics and biological fates. London: **Free radical research**, 50, n. 2, p. 150-171, 2016.

TSAO, C. W.; ADAY, A. W.; ALMARZOOQ, Z. I.; ALONSO, A. *et al.* Heart disease and stroke statistics—2022 update: A report from the American Heart Association. Philadelphia: **Circulation**, 145, n. 8, p. e153-e639, 2022.

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

VERBON, E. H.; POST, J. A.; BOONSTRA, J. The influence of reactive oxygen species on cell cycle progression in mammalian cells. Amsterdam: **Gene**, v. 511, n. 1, p. 1-6, 2012.

WAFI, A. M.; YU, L.; GAO, L.; ZUCKER, I. H. Exercise training upregulates Nrf2 protein in the rostral ventrolateral medulla of mice with heart failure. Rockville: **Journal of Applied Physiology**, 127, n. 5, p. 1349-1359, 2019.

WAXENBAUM, J. A.; REDDY, V.; VARACALLO, M. Anatomy, autonomic nervous system. 2019.

WEBB, W. G. 2—Organization of the nervous system I. **Neurology for the speech-language pathologist, sixth edition, Mosby**, p. 13-43, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Levels and trends in child malnutrition: **UNICEF**.2021. Disponivel em: https://www.who.int/publications/i/item/9789240025257. Acesso em 20/02/2022.

WU, G.; BAZER, F. W.; SATTERFIELD, M. C.; LI, X. *et al.* Impacts of arginine nutrition on embryonic and fetal development in mammals. Vienna: **Amino acids**, 45, n. 2, p. 241-256, 2013.

WU, R.-m.; SUN, Y.-y.; ZHOU, T.-t.; ZHU, Z.-y. *et al.* Arctigenin enhances swimming endurance of sedentary rats partially by regulation of antioxidant pathways. Tai-Yuan **Acta Pharmacologica Sinica**, 35, n. 10, p. 1274-1284, 2014.

YANG, Q.; WITKIEWICZ, B. B.; OLNEY, R. S.; LIU, Y. *et al.* A case-control study of maternal alcohol consumption and intrauterine growth retardation. Raleign **Annals of epidemiology**, 11, n. 7, p. 497-503, 2001.

YE, J.; ZOU, G.; ZHU, R.; KONG, C. *et al.* Structural basis of GABARAP-mediated GABA A receptor trafficking and functions on GABAergic synaptic transmission. London: **Nature communications**, 12, n. 1, p. 1-12, 2021.

YOUNG, D. R.; HIVERT, M.-F.; ALHASSAN, S.; CAMHI, S. M. *et al.* Sedentary behavior and cardiovascular morbidity and mortality: a science advisory from the American Heart Association. Philadelphia: **Circulation**, 134, n. 13, p. e262-e279, 2016.

ZALESKI, A. L.; TAYLOR, B. A.; PARK, C. L.; SANTOS, L. P. *et al.* Using the immediate blood pressure benefits of exercise to improve exercise adherence among adults with hypertension: a randomized clinical trial. Manchester: **Journal of hypertension**, 37, n. 9, p. 1877-1888, 2019.

ZOROV, D. B.; JUHASZOVA, M.; SOLLOTT, S. J. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. Kreuzau: **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1757, n. 5-6, p. 509-517, 2006.

ZOROV, D. B.; JUHASZOVA, M.; SOLLOTT, S. J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. Alabama: **Physiological reviews**, v. 94, n. 3, p. 909-950, 2014.

ZOU, T.; YU, B.; YU, J.; MAO, X. *et al.* Moderately decreased maternal dietary energy intake during pregnancy reduces fetal skeletal muscle mitochondrial biogenesis in the pigs. Wageningen: **Genes & nutrition**, 11, n. 1, p. 1-10, 2016.

ANEXOS

ANEXO I – 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 Antão (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	() Ensino (X) 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

ANEXOS II – Comprovação de Submissão do artigo original associado com a Dissertação

Nutritional Neuroscience

Moderate physical exercise minimizes harmful effects of maternal protein malnutrition on the REDOX state and modulates the glutamatergic/GABAergic neural network in rat brainstem.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Moderate physical exercise minimizes harmful effects of maternal protein malnutrition on the REDOX state and modulates the glutamatergic/GABAergic neural network in rat brainstem.
Article Type:	Original Research Paper
Keywords:	Malnutrition; physical exercise; oxidative stress; brainstem; neurogenic hypertension; cardiovascular disease
Corresponding Author:	Claudia Jacques Lagranha, PhD UFPE: Universidade Federal de Pernambuco BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	UFPE: Universidade Federal de Pernambuco
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Elenilson Maximino Bernardo
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Elenilson Maximino Bernardo
	Anderson Apolônio da Silva Pedroza
	Diorginis José Soares Ferreira
	Severina Cassia de Andrade Silva
	Allifer Rozendo
	Matheus Santos de Sousa Fernandes
	Tercya Lúcidi de Araujo Silva
	Mariana Pinheiro Fernandes
	Claudia Jacques Lagranha, PhD
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	Background Maternal protein malnutrition during developmental periods might impair the REDOX state and the excitatory/inhibitory neural network in the brainstem, increasing the risk of developing cardiovascular diseases. Conversely, moderate physical exercise at an early age reduces the risk of cardiac comorbidities, including hypertension. Thus, we hypothesized that a moderate training protocol could reduce the harmful effects of a low-protein maternal diet on the brainstem of male offspring. Methods We used a rat model of maternal protein restriction during the gestational and lactation period followed by an offspring's continuous treadmill exercise. Pregnant rats were divided into two groups according to the protein content in the diet: normoprotein (NP), receiving 17% casein, and low-protein (LP), receiving 8% casein. At 30 days, male offspring were further subdivided into sedentary (NPS and LPS) or trained (NPT and LPT) groups. The trained animals performed a treadmill exercise at 50% of the

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation