



DIETA DE RESTRIÇÃO PROTEICO-CALÓRICA DURANTE A LACTAÇÃO CAUSA AUMENTO DE PRESSÃO ARTERIAL MATERNA EM RATOS WISTAR (dados preliminares)

João Victor Damín¹; Nilton Rodrigues Teixeira Junior²; Scarlett Rodrigues Raposo³; Leticia Ferreira Barbosa⁴; Paulo César de Freitas Mathias⁵; Kesia Palma-Rigo⁶.

¹Acadêmico de mestrado em Ciências Fisiológicas; Bolsista CNPq; Membro do laboratório Experimental em DOHaD (LExDOHaD), joao_damin@hotmail.com

²Acadêmico de doutorado em biologia celular e molecular da Universidade Estadual de Maringá; Bolsista CAPES; Membro do laboratório Experimental em DOHaD (LExDOHaD), nilton98rodrigues@gmail.com

³Acadêmica de doutorado em biologia celular e molecular da Universidade Estadual de Maringá; Bolsista CNPq; Membro do laboratório Experimental em DOHaD (LExDOHaD), scarletttrapos@gmail.com

⁴Acadêmica de doutorado em biologia celular e molecular da Universidade Estadual de Maringá; Bolsista CAPES; Membro do laboratório Experimental em DOHaD (LExDOHaD), aicitel.bioquimica@gmail.com

⁵Professor sênior do programa de pós-graduação em biologia celular e molecular; Coordenador do laboratório Experimental em DOHaD (LExDOHaD), pmathias@uem.br

⁶Professora do programa de pós-graduação em Ciências Fisiológicas; Colaboradora do laboratório Experimental em DOHaD (LExDOHaD), kesiapalmarigo@hotmail.fr

RESUMO

A nutrição materna durante a lactação exerce papel fundamental na saúde da prole, sendo um dos alvos centrais do conceito DOHaD (Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença). No entanto, poucos estudos investigam os efeitos agudos dessas intervenções dietéticas durante a lactação na saúde materna. Portanto este estudo avaliou os impactos cardiovasculares de uma dieta com restrição proteico-calórica durante a lactação em ratas Wistar. Para tal, Fêmeas adultas Wistar (n=24) foram divididas em dois grupos no segundo dia de lactação : Controle (C), alimentado com ração padrão (20,5% de proteína), e Low Protein (LP), alimentado com dieta hipoproteica (4% de proteína) do dia 1 ao 14 da lactação, seguida de dieta padrão até o desmame. Foram avaliados peso corporal, consumo alimentar, pressão arterial sistólica (por pletismografia de cauda) e peso do coração. As ratas do grupo LP apresentaram aumento significativo da pressão arterial ao final da lactação (P=0,0021), sem alteração no peso cardíaco (P=0,68). Observou-se redução do peso corporal e do consumo alimentar nos primeiros 14 dias, com recuperação parcial após a reintrodução da dieta padrão. Ainda assim, a análise da área sob a curva revelou menor ganho de peso (P=0,0003) e menor ingestão alimentar total (P=0,0001) no grupo LP ao longo da lactação. Os resultados indicam que mesmo um curto período de restrição calórico-proteica durante a lactação é suficiente para desencadear alterações cardiovasculares maternas, reforçando a importância da saúde da mãe nesse período crítico.

PALAVRAS-CHAVE: DOHaD; Lactação; Low-Protein; Metabolismo.

1 INTRODUÇÃO

A amamentação é de extrema importância para a prole de mamíferos, e já foi demonstrado ser uma das janelas de programação metabólica para os filhotes (SILVEIRA *et al*, 2007). Essas janelas de programação têm potencial para programar um adulto saudável ou comprometido com um maior risco de desenvolver síndrome metabólica (PICÓ *et al*, 2020) como já descrito pelo conceito DOHaD (do inglês, Developmental origins of health and disease) (BARKER; OSMOND, 1986). Filhotes de mães que recebem dieta LP durante a gestação e lactação apresentam menor crescimento e peso, menor concentração de proteínas totais no soro aos 30 dias de vida, e pressão arterial aumentada quando adultos (de BRITO ALVES, 2014).

Muitos estudos dentro do conceito DOHaD avaliam os efeitos negativos da dieta LP na saúde do filhote, porém poucos abrangem a saúde da mãe nesse período. Já é bem descrito na literatura que a saúde metabólica da mãe antes, durante e após a gestação regula a expressão gênica, metabolismo e crescimento saudável do filhote, sendo ainda a



nutrição e peso da mãe durante a lactação diretamente relacionada a taxa de mortalidade da prole (MARSHAL *et al*, 2022). Portanto o objetivo deste trabalho foi estudar os impactos cardiometabólicos agudos de uma dieta de restrição calórico-proteica durante a lactação nas mães.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ANIMAIS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Foram utilizados ratos Wistar, criados no biotério central da Universidade Estadual de Maringá. Ratos fêmeas (n=24) entre 80 e 90 dias de vida foram transportados juntos com machos (n=12) para cruzamento, para o Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular da Secreção vinculado ao Departamento de Genéticas, Biotecnologia e Biologia Celular. Os animais foram mantidos em uma sala controlada, com temperatura constante de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas (7:00-19:00 horas, período claro), com acesso livre à água e ração (Nuvital®, Curitiba, Brasil), e passaram por um período de adaptação de sete dias. Todos os protocolos experimentais foram desenvolvidos de acordo com as normas do Comitê de Ética para Uso e Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá. Ao final dos 7 dias as ratas foram submetidas ao cruzamento com os machos, em uma proporção por caixa de um macho para duas fêmeas. A partir da confirmação de prenhez das fêmeas, elas foram encaminhadas para caixas individuais.

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O dia do nascimento dos animais foi considerado o dia 0, e nenhuma intervenção aconteceu neste dia. No dia 1 foi atribuída a devida dieta a rata (*ad libitum*), assim como realizada a pesagem de água, comida e da mãe, e no dia 2 foi realizada a padronização e pesagem da ninhada, sendo as ninhadas padronizadas para 9 filhotes por mãe. Os animais foram divididos em 2 grupos de 12 fêmeas, totalizando 24 animais: o grupo Controle (C), alimentado com ração comercial padrão Nuvital®; e o grupo Low Protein (LP), alimentado com ração hipoproteica (4% de proteínas). As intervenções dietéticas foram realizadas exclusivamente durante a lactação, ocorrendo grupo C até o último dia da lactação e no grupo LP apenas até o dia 14, devido a sua alta restrição proteica, sendo a dieta então substituída pela dieta comercial padrão. Durante toda a duração experimental foram registrados o consumo alimentar e peso dos animais.

2.3 EUTANÁSIA E COLETA DE TECIDOS

A eutanásia foi realizada logo após a lactação por rápida decapitação por guilhotina afiada (Insight, Ribeirão Preto) específica para roedores, e os corações foram coletados e pesados.

2.4 PLETISMOGRAFIA DE CAUDA

Todos os animais tiveram sua pressão arterial avaliada por pletismografia de cauda logo ao final da lactação. As ratas foram adaptadas para a pletismografia, sendo submetidas a luz infravermelha aquecida durante 20 minutos durante uma semana.



Para a realização da pletismografia, os animais foram colocados em uma caixa aquecida com luz infravermelha por 10 minutos para dilatação da artéria caudal. Posteriormente foi colocado o cuff de insuflação e um sensor de pulso na região da artéria caudal da rata para aferir o pulso arterial. Esse cuff e sensor foram conectados a transdutores ligados a amplificadores de sinais BP-100, que foram conectados ao PowerLab/400, e suas aferições foram registradas em forma de gráficos utilizando o software LabChart7 (AD Instruments). Para determinar a medida da pressão arterial sistólica (PAS) do animal foi calculado uma média usando três aferições consecutivas com o pletismógrafo.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados desse estudo foram processados usando o programa GraphPadPrism 8 (GraphPad softwares, La Jolla, CA, USA). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Foram considerados significativos os resultados que apresentaram $p < 0,05$. Foi realizado um teste de normalidade seguido de teste t de *Student*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A dieta de restrição proteico-calórica foi capaz de causar aumento na pressão arterial ($P=0,0021$) em ratas durante a lactação, mesmo durante um curto período de 14 dias, como mostra a figura 1A. O aumento da pressão arterial do grupo LP não foi acompanhado de mudança significativa ($p=0,68$) no peso do coração desses animais (Figura 1B).

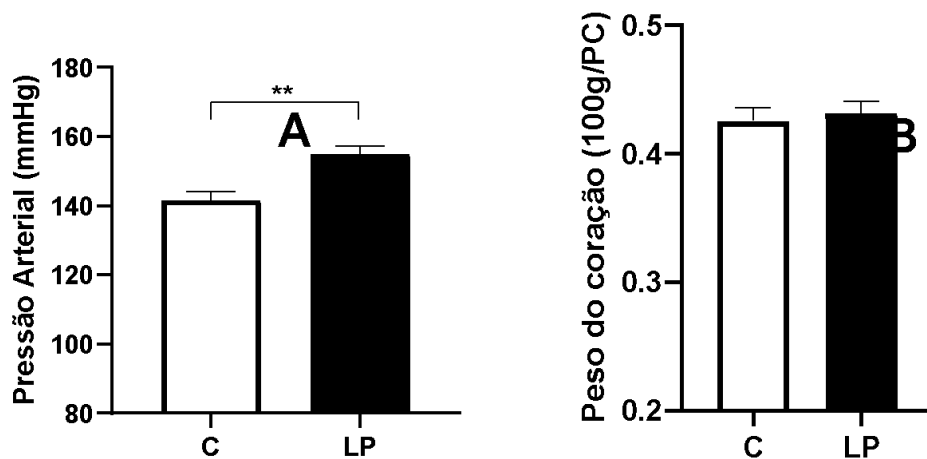


Figura 1 – Gráficos representando pressão arterial e peso relativo dos corações.

Nota: Dados expressos em valor de p; média \pm erro padrão da média; número de animais (n). A) pressão arterial dos animais controle e Low Protein ($p=0,0021^{**}$; C 141,6 \pm 2,59; n=8 vs LP 155,1 \pm 2,29; n=7); B) Peso do coração relativo a 100 gramas de peso corporal do animal ($p=0,68$; C 0,4257 \pm 0,009 vs LP 0,4313 \pm 0,009; n=7). **Fonte:** Dados preliminares deste projeto.

O peso ponderal dos animais foi medido semanalmente, sendo possível identificar redução no peso dos animais LP nos primeiros 14 dias em que a dieta LP foi administrada, seguido de um efeito de catch up após os 14 dias com o retorno da dieta padrão (Figura 2C). Ao realizar a análise de área sob a curva do peso ponderal identificou-se diferença estatística entre os grupos ($p=0,0003$) (Figura 2D), o que mostra que o ganho de peso durante os 21 dias da lactação foi menor no grupo LP quando comparado com o controle.



O consumo alimentar dos animais seguiu o mesmo padrão com um menor consumo por parte dos animais LP até os 14 dias seguidos de um catch up, e a análise de área sob a curva foi significativa ($p=0,0001$) mostrando que os animais LP tiveram um menor consumo nesse período.

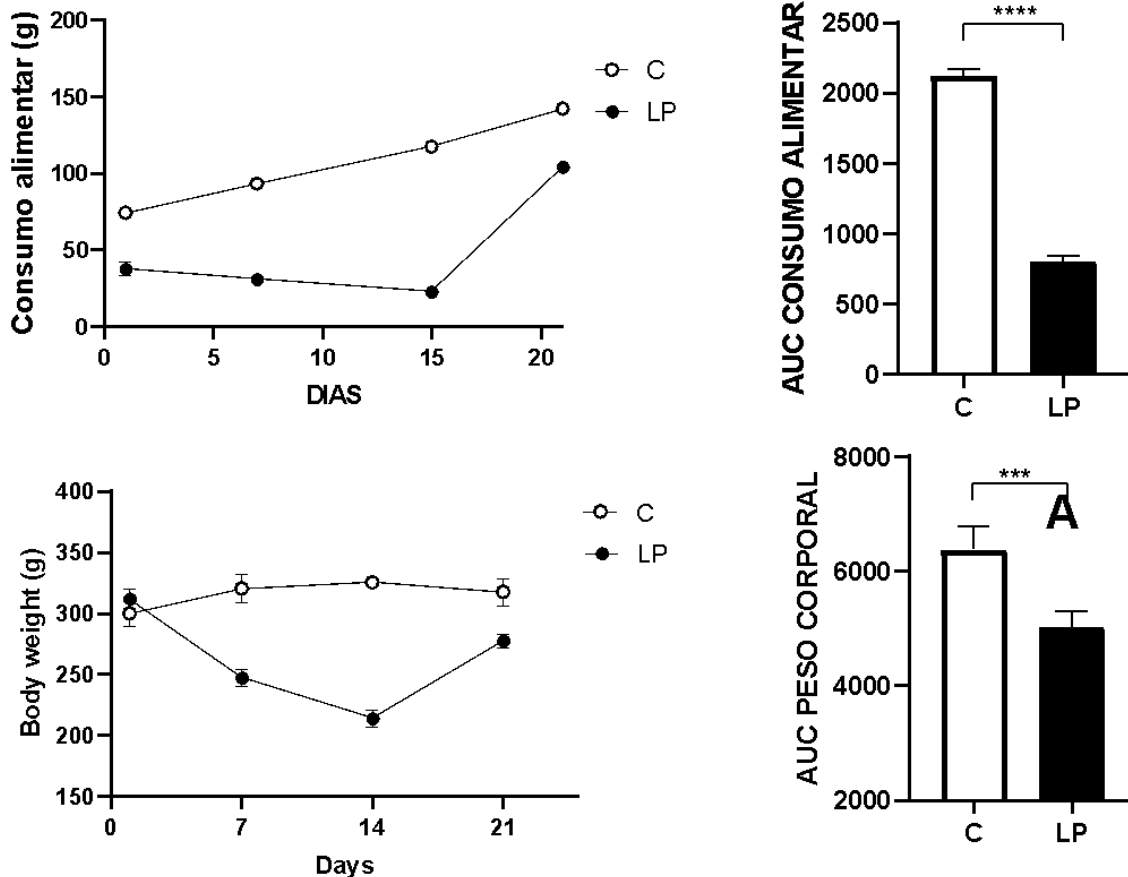


Figura 2 – Consumo alimentar e ganho ponderal ao longo do experimento e área sob a curva.
Nota: Dados expressos em valor de p ; média \pm erro padrão da média; número de animais (n). A) consumo alimentar ao longo do experimento; B) Área sob a curva do consumo alimentar ($p=0,0001^{****}$; C $2123 \pm 42,79$ vs LP $801,5 \pm 38$; $n=5$); C) Peso ponderal ao longo do experimento; C) área sob a curva do peso ponderal ($p=0,0003^{***}$; C $6374 \pm 176,4$ vs LP $5016 \pm 128,5$; $n=5$).

Fonte: Dados preliminares deste projeto.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados preliminares apresentados neste trabalho mostram que a dieta LP durante os primeiros 14 dias de lactação causam um aumento de pressão arterial sem causar mudança no peso relativo do coração e causam redução no consumo e ganho de peso ao longo da lactação. A saúde da mãe afeta diretamente a saúde do filhote, por isso é de extrema importância entender também o que acontece com o corpo da mãe durante intervenções como a dieta LP. De acordo com Sokołowska e colegas (2023) o leite de mães com hipertensão apresentam maiores quantidades de gordura, carboidratos e energia. Estudos como esse revelam a necessidade de mais estudos que abranjam também a saúde da mãe investigam-no contexto do conceito DOHaD.



Agradecemos a CAPES e ao CNPq pelo suporte financeiro, às empresas parceiras JBS e INSPAM, ao grupo LExDOHaD, ao programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular (PBC-UEM), e à Universidade Estadual de Maringá.

REFERÊNCIAS

1. BARKER, D.J.; OSMOND, C. **Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales**. *Lancet*. 1(8489) p. 1077-1081. Maio, 1986.
2. SILVEIRA P. P.; PORTELLA A. K.; GOLDANI M. Z.; BARBIERI M. A. **Developmental origins of health and disease (DOHaD)**. *Jornal de Pediatria*. 83, 6. Rio de Janeiro. Dezembro 2007.
3. PICÓ, C.; REIS, F.; EGAS, C.; MATHIAS, P.; MATAFOME, P. **Lactation as a programming window for metabolic syndrome**. *European Journal of Clinical Investigation*, Vol. 51, n. 5. Dezembro, 2020.
4. DE BRITO ALVES, J. L.; NOGUEIRA, V. O.; OLIVEIRA, G. B. *et al.* **Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O₂/CO₂ chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring**. *British Journal of Nutrition*. Vol.111, n. 4 p. 606-615. 2014. Disponível em: doi:10.1017/S0007114513002833
5. GRAVENA, C., *et al.* **Protein restriction during lactation alters the autonomic nervous system control on glucose-induced insulin secretion in adult rats**. *Nutritional Neuroscience*, Vol. 10, n. 1–2, p. 79–87. Setembro, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10284150701308693>.
6. MARSHALL, N. E.; ABRAMS, B.; BARBOUR, L. A.; THORNBURG, K. L. *et al.* **The importance of nutrition in pregnancy and lactation: lifelong consequences**. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. Vol. 226, n. 5, p. 607-632. Maio, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.12.035>
7. SOKOŁOWSKA, E.M. *et al.* **Gestational Hypertension and Human Breast Milk Composition in Correlation with the Assessment of Fetal Growth-A Pilot Study**. *Nutrients*. Vol. 15, n.10:2404. Maio, 2023. Disponível em: doi: 10.3390/nu15102404