

EFEITOS DA RESTRIÇÃO DE VITAMINA D NA PROLE ADULTA DE RATOS WISTAR

Filipe Gabriel Reis Monteiro^{1*}, Flávia Fernandes de Lima², Pamella Campos Silva³,
Francisco José Barcellos Sampaio⁴, Bianca Martins Gregório⁵, Fernanda Amorim M
Nascimento⁶

¹Acadêmico do curso de Enfermagem da Universidade do Grande Rio Prof. José de Souza Herdy – UNIGRANRIO. Aluno de Iniciação Científica na Unidade de Pesquisa Urogenital da Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ. E-mail: filipeaffn@gmail.com

²Nutricionista. Doutoranda em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas na Unidade de Pesquisa Urogenital da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ. Mestre em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental da UERJ. Especialista em Terapia Nutricional Parenteral e Enteral pelo Instituto de Nutrição da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro. E-mail: delima.ff@gmail.com

³Bióloga. Mestre e Doutoranda em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas na Unidade de Pesquisa Urogenital da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ.

⁴Médico. Professor Titular da Anatomia na Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ. Pesquisador 1A do CNPq. Cientista do Nosso Estado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ. Coordenador do Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas (Conceito 5 pela CAPES) - UERJ. E-mail: sampaio.uerj@gmail.com

⁵Nutricionista. Pós-doutora pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Doutora em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental da UERJ. Mestre em Ciências Morfológicas pela UERJ. Especialista em Nutrição Clínica e Pediátrica pela UERJ. Membro da DOHaD (International Society for Developmental Origins of Health and Disease). Professora Adjunta no Departamento de Anatomia - UERJ.

⁶Nutricionista. Pós-doutoranda pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Doutora em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental da UERJ. Mestre em Ciências Morfológicas pela UERJ. Membro da DOHaD (International Society for Developmental Origins of Health and Disease). Professora Assistente A na Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. Professora Auxiliar no Centro Universitário Celso Lisboa.

Introdução: A vitamina D foi originalmente reconhecida como uma vitamina necessária para homeostase do cálcio e fósforo. Este micronutriente pode ser também obtido através da alimentação e pela conversão endógena, a qual sofre influência dos raios UV-B solares sobre a pele. A vitamina D é lipossolúvel e considerada imprescindível para a manutenção da saúde, já que sua deficiência está relacionada a morbidades como raquitismo, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e alguns tipos de câncer. As perguntas geradas a partir dos muitos estudos envolvendo a vitamina D, e a descoberta de receptores nucleares para a mesma, impulsionaram as pesquisas com objetivo de estudar os efeitos da hipovitaminose D nos diversos órgãos do corpo. Sabe-se que a deficiência de vitamina D, em fases críticas do desenvolvimento, pode relacionar-se com hipertensão arterial e alterações renais, em roedores. Em humanos, estudos epidemiológicos mostram que a insuficiência de vitamina D na idade reprodutiva é prevalente em todo o mundo, mesmo em países tropicais como o Brasil. Desta forma, evidências denotam que a restrição de vitamina D, durante o período perinatal, está associada com o desenvolvimento de alterações renais e na expressão de moléculas relacionadas ao sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), entretanto os estudos pouco discutem a ação da deficiência desta vitamina sobre o sistema urogenital.

Objetivo: Avaliar os efeitos da restrição de vitamina D nos períodos perinatal e/ou pós-natal, sobre a adiposidade, metabolismo glicídico e parâmetros espermáticos em ratos Wistar machos. **Métodos:** Foram utilizadas fêmeas (n=17) Wistar virgens, mantidas em biotério, com temperatura de $21\pm 2^{\circ}\text{C}$, submetidas a controle de ciclo de 12h claro/escuro (luz artificial, 7:00 às 19:00 horas), e água *ad libitum*. Com seis semanas de idade ($\pm 270\text{g}$) as mesmas foram separadas, segundo as respectivas dietas experimentais em dois grupos principais: SC (n=8; fêmeas que receberam dieta padrão segundo as recomendações da AIN93G) ou VitD- (n=9; fêmeas que receberam dieta segundo as recomendações da AIN93G, mas isenta em vitamina D) durante seis semanas até o acasalamento (pré-gestacional). Aos três meses de idade, as fêmeas foram acasaladas com machos da mesma idade e que receberam dieta padrão por toda a vida. Ao nascimento, as proles foram fixadas em seis animais (relação 1:1 entre macho e fêmea). Ao desmame, apenas os filhotes machos foram separados para compor os grupos experimentais pós-natal: SC/SC e VitD/VitD-. Todavia, avaliou-se, nas progenitoras, a glicemia de jejum e o ganho ponderal de peso. A prole foi avaliada em dois momentos: ao nascimento e aos quatro meses de idade. Avaliou-se também a ingestão dietética diariamente, massa corporal (MC) e comprimento nasoanal (CNA) semanalmente. Ao final do experimento, realizou-se o Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG). Na eutanásia avaliou-

se a massa e volume renais, os compartimentos de gordura, volume testicular e a concentração e viabilidade dos espermatozoides. Os órgãos-alvo citados serão processados para futuras análises morfológicas e moleculares e o $P < 0,05$ foi considerado como significativo. Ainda serão formados os grupos onde haverá a troca da dieta da prole, formando os grupos SC/VitD e VitD/SC. O projeto foi aceito pela Comissão de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), com o protocolo nº CEUA/034/2014.

Resultados e Discussão: Nas progenitoras, não foram encontradas diferenças no ganho ponderal ($55,1 \pm 4,1$ g SC vs $52,5 \pm 6,7$ g; VitD), consumo alimentar ($22,4 \pm 0,7$ g/animal/dia, SC vs $22,0 \pm 0,6$ g/animal/dia, VitD), ingestão energética ($376,5 \pm 16,2$ KJ/animal/dia, SC vs $364,0 \pm 11,2$ KJ/animal/dia, VitD), eficiência alimentar ($0,7 \pm 0,1$ g /KJ, SC vs $0,7 \pm 0,1$ g /KJ, VitD) ou glicemia de jejum ($5,3 \pm 0,2$ mmol/L, SC vs $5,1 \pm 0,2$ mmol/L, VitD) entre os grupos. Na prole, a massa corporal ($6,2 \pm 0,2$ g, SC vs $6,5 \pm 0,1$ g, VitD), comprimento naso-anal ($5,1 \pm 0,1$ cm, SC vs $5,2 \pm 0,2$ cm, VitD) ou glicemia ($4,4 \pm 0,1$ mmol/L, SC vs $4,8 \pm 0,2$ mmol/L, VitD) também não diferiram entre os grupos, ao nascimento, enquanto que a massa renal foi mais pesada no grupo VitD (+13%; $P=0,04$) quando comparado ao grupo SC. Aos quatro meses de idade, o grupo VitD apresentou intolerância à glicose (+11%; $P=0,01$) e aumento no compartimento de gorduras epididimária, retroperitoneal e subcutânea (+22%, +21% e +48%, respectivamente; $P < 0,01$), mas sem diferença na massa corporal. Os volumes renal e testicular também foram maiores, quando comparados ao grupo SC (+25% e +13%, respectivamente; $P < 0,01$). Além disso, houve diminuição da concentração (-42%; $P=0,008$), motilidade (-45%; $P=0,002$) e viabilidade (-58%; $P < 0,0001$) dos espermatozoides no grupo VitD/VitD. Os resultados parciais do presente estudo mostram que a restrição de vitamina D durante fases críticas do desenvolvimento pode alterar a composição corporal, mesmo sem apresentar alterações da MC. Estudos com camundongos já mostraram que a deficiência de vitamina D materna durante a gestação e lactação afeta a adiposidade e eleva os níveis de pressão arterial, glicemia e marcadores do SRAA. Além disso, estudos epidemiológicos mostram forte relação da hipovitaminose D com a obesidade e doenças cardiovasculares. Nosso estudo mostrou também que a restrição crônica de vitamina D afeta marcadores da fertilidade masculina, tais como a viabilidade e motilidade dos espermatozoides. Alguns estudos com humanos evidenciam maior risco de infertilidade quando os níveis da vitamina D sanguínea são reduzidos. No entanto, poucos estudos avaliam os efeitos da restrição em períodos críticos do desenvolvimento sobre o sistema urogenital. Tampouco analisam qual o

período de insulto é mais prejudicial. Assim, mesmo países tropicais, como o Brasil, apresentam dados de insuficiência de vitamina D relevantes, associados com baixa ingestão dietética, como mostrou a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), de 2010. De fato, os resultados são parciais e a futura análise morfológica e molecular dos testículos, rins e gorduras poderão esclarecer melhor os achados, o que torna o estudo relevante. **Conclusão:** A deficiência de vitamina D durante a gestação não altera a biometria ou o consumo alimentar das progenitoras, mas é capaz de promover resistência à insulina, associada ao aumento dos compartimentos de gordura, e diminuição na concentração, motilidade e viabilidade dos espermatozoides em ratos Wistar machos adultos, quando associada à restrição durante a vida pós-natal e/ou perinatal.

Descritores: Programação fetal, Vitamina D, Adiposidade, Metabolismo dos carboidratos, Espermatozoides.

Financiamento: CAPES, FAPERJ.

Referências

1. BARKER, D. J. The fetal origins of diseases of old age. **Eur J Clin Nutr**, v. 46 Suppl 3, p. S3-9, Oct 1992.
2. HAUSSLER, M. R. et al. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of $1\alpha,25(\text{OH})_2$ vitamin D_3 : genomic and non-genomic mechanisms. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v. 25, n. 4, p. 543-59, Aug 2011.
3. PLUDOWSKI, P. et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-a review of recent evidence. **Autoimmun Rev**, v. 12, n. 10, p. 976-89, Aug 2013.
4. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr**, v. 123, n. 11, p. 1939-51, Nov 1993.
5. WAGNER, C. L. et al. Vitamin D and its role during pregnancy in attaining optimal health of mother and fetus. **Nutrients**, v. 4, n. 3, p. 208-30, Mar 2012.