

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA

Bernardo Gindri dos Santos

**A SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM NARINGINA DURANTE A GESTAÇÃO
ALTERA O ESTADO REDOX E A FUNCIONALIDADE MITOCONDRIAL NO
ENCÉFALO DA PROLE DE RATAS WISTAR**

Porto Alegre

2022

Bernardo Gindri dos Santos

**A SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM NARINGINA DURANTE A
GESTAÇÃO ALTERA O ESTADO REDOX E A FUNCIONALIDADE
MITOCONDRIAL NO ENCÉFALO DA PROLE DE RATAS WISTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Bioquímica.

Orientadora: Professora Dra. Cristiane Matté

Porto Alegre

2022

CIP - Catalogação na Publicação

dos Santos, Bernardo

A SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM NARINGINA DURANTE A GESTAÇÃO ALTERA O ESTADO REDOX E A FUNCIONALIDADE MITOCONDRIAL NO ENCÉFALO DA PROLE DE RATAS WISTAR / Bernardo dos Santos. -- 2022.

256 f.

Orientadora: Cristiane Matté.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Polifenóis. 2. DOHaD. 3. Mitocôndria. 4. Estado redox. 5. Encéfalo. I. Matté, Cristiane, orient. II. Título.

Dedicatória

Dedico esse trabalho, todo aprendizado e emoções que ele me proporcionou durante esse período à minha amiga Rianne Gastaldo Ruviaro.

Você é lembrada com muita saudade em cada gargalhada que escuto, em cada mulher que luta e em cada momento que estou junto dos nossos amigos.

Agradecimentos

O primeiro Bernardo que tenho conhecimento em minha família nasceu em 1752, na Itália. Seu nome completo era Bernardo Giacomo Campedel e casou-se com Angela De Pellegrin. Mais de 100 anos depois, nasceu meu bisavô, Bernardo Ben, bisneto do primeiro Bernardo, e que se casou com Giulia Piani. Outros 100 anos mais tarde e foi minha vez, já em terras Brasileiras, e graças à minha mãe, de herdar o nome Bernardo e toda a história dessas pessoas. Naturalmente, eu não tive contato com nenhum deles, mas essa breve história serve para ilustrar algo muito simples: eu não teria chegado até aqui sem eles. Portanto, esses agradecimentos são uma celebração às minhas famílias e a essas pessoas que compartilham suas alegrias, tristezas e suas vidas comigo.

Agradeço especialmente aos meus pais, Jairo e Eneida, e ao meu irmão Henrique, por sempre me apoiarem em minhas escolhas e minha jornada. Amo vocês mais do que posso compreender.

Aos meus tios, Nilo e Narlei, por todo cuidado, apoio e carinho que tiveram comigo durante o período em que morei em Porto Alegre.

Às minhas primas, Eduarda, Gabriela e Elenice. Estar com vocês é como estar em casa, seja onde for.

À minha orientadora Cristiane, sou muito grato por todos os anos em que me ensinou e passou toda sua experiência em ensino e pesquisa, que são a base da minha formação como pesquisador.

Às professoras da banca avaliadora, que gentilmente aceitaram o convite de avaliar e contribuir com o projeto de pesquisa e tese.

Aos meus colegas do laboratório 23, especialmente a Pauline, Caroline, Karoline, Juliana, Mariana C. e Bárbara, por terem dividido tantas risadas,

conselhos e preocupações. Vocês tornaram essa jornada muito mais alegre e recompensadora do que eu poderia imaginar.

Aos meus amigos, especialmente ao Lucas, Iana, Diego, Júlio, Ritiele, Nicole, Estephanea, Emanuel, Mariana T., Mariane, Rossani e Ketson, que me presenteiam com momentos e experiências inesquecíveis. Eu amo demais vocês.

Às minhas colegas e amigas do departamento de bioquímica, Iohanna, Fernanda e Alessandra, por dividirem tantos momentos e aprendizados tanto da pós-graduação como da vida.

Aos amigos e professores da OverBoxe, por todo companheirismo e pelas lições de paciência e persistência que me ensinaram.

A UFRGS, pela excelência no ensino e por ser um lugar de reflexão, diversidade e de luta. Que seja cada vez mais assim.

Aos professores e funcionários do Departamento de Bioquímica, pelo trabalho em criar e proporcionar um ambiente de ensino e formação acadêmica de excelência para mim e tantos outros alunos.

Por fim, agradecer as agências de fomento, CAPES, CNPq, PROPESQ e FAPERGS pelo apoio financeiro que possibilitou a realização de nossa pesquisa.

ÍNDICE

Resumo	7
Abstract	8
Lista de abreviações	9
INTRODUÇÃO	12
As origens desenvolvimentistas da saúde e da doença e o consumo materno de polifenóis durante a gestação como modulador metabólico na prole.....	12
Polifenóis e naringina: classificação, metabolismo e farmacocinética	17
Espécies reativas de oxigênio: de subprodutos tóxicos do metabolismo ao sistema de sinalização redox	22
O papel do metabolismo e da sinalização mitocôndria-núcleo em mediar a biogênese e as adaptações morfológicas mitocondriais	34
A sinalização e metabolismo mitocondriais e seu papel durante a neurogênese fetal	43
OBJETIVOS	50
Objetivo Geral	50
Objetivos Específicos.....	50
RESULTADOS	52
Capítulo I.....	52
Capítulo II.....	85
Capítulo III.....	129
DISCUSSÃO	189
REFERÊNCIAS.....	205
ANEXOS	245
Anexo I: Métodos suplementares.....	245
Anexo II: Resultados suplementares.....	245
Anexo III: Outras produções realizadas durante o período do doutorado e relacionadas à temática da tese	254
Anexo IV: Carta de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.....	255

Resumo

Ao longo das últimas décadas, um acumulado cada vez maior de evidências vem demonstrando que o consumo regular de polifenóis leva a diversos benefícios para saúde em modelos experimentais e em estudos clínicos. Da mesma forma, a suplementação com naringina, um polifenol da classe dos flavonoides, é capaz de induzir neuroproteção e resgatar a neurogênese adulta em diferentes modelos experimentais de doenças do sistema nervoso central, principalmente por reduzir o estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial. Tais dados causam um enorme impacto na percepção da população sobre o consumo dos suplementos ricos em polifenóis, o que leva a altas taxas de consumo, inclusive entre mulheres gestantes, atingindo níveis de 57%. Não surpreendentemente, diversos trabalhos já começaram a demonstrar que o consumo materno de polifenóis durante a gestação pode levar a alterações metabólicas e funcionais na prole durante a vida adulta. Dessa forma, visto que a naringina é capaz de regular a sinalização redox e mitocondrial, nosso objetivo com o presente trabalho foi avaliar se a suplementação com a naringina durante a terceira semana de gestação pode induzir alterações redox e mitocondriais no encéfalo da prole durante o desenvolvimento pós-natal. Para isso, nós utilizamos ratas Wistar prenhas que foram divididas em dois grupos: controle e naringina (100 mg/kg/dia) e suplementadas via gavagem do dia gestacional 15 a 21. Após o nascimento a prole foi eutanasiada nos dias pós-natais 1, 7 e 21 e o cerebelo, hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado foram coletados para as análises. Além disso também realizamos a coleta de sangue para perfil bioquímico e análise do desenvolvimento neuromotor nas duas primeiras semanas de vida da prole. Nossos resultados mostram que a suplementação materna com naringina levou ao aumento do colesterol total e HDL aos 21 de vida da prole, sem alterar os outros parâmetros metabólicos. Além disso, também observamos diversas alterações redox de forma região e sexo-específica no encéfalo da prole que se concentraram principalmente no período perinatal. No entanto, tais alterações não persistiram até o desmame, provavelmente pela redução da ativação do NRF2 que pode ter sido induzida no período da suplementação. Já as alterações mitocondriais encontradas no cerebelo demonstraram um caráter sexo-dependente durante o período perinatal e persistiram até o desmame. Aos 21 dias de vida, a prole nascida de ratas suplementadas com naringina apresentou maior funcionalidade mitocondrial, produção de superóxido e redução da proteína DRP1, indicando redução da fissão mitocondrial. Tais alterações foram acompanhadas pelo aumento da expressão da sirtuína 3 e redução da ativação da proteína AKT sem a indução de dano oxidativo às proteínas. Nossos achados indicam que a suplementação materna com naringina induziu uma adaptação metabólica no cerebelo da prole, onde ela foi capaz de estimular de forma persistente a respiração e metabolismo mitocondrial, levando a uma ativação da sirtuína 3 e uma alteração morfológica mitocondrial frente a tal adaptação. Assim, é importante considerar cuidadosamente o consumo de suplementos contendo altas doses de polifenóis durante a gestação, visto que nossos dados demonstram que eles podem modular a sinalização, dinâmica e funcionalidade mitocondrial, e conseqüentemente interferir durante o processo de neurogênese e neurodesenvolvimento fetal.

Abstract

During the last decades, an increasing body of evidence has been demonstrating that regular polyphenol consumption may induce several health benefits in both experimental and clinical studies. Similarly, naringin supplementation is also able to induce neuroprotection and improve adult neurogenesis in different models of central nervous system diseases, mainly by reducing oxidative stress and mitochondrial dysfunction. Such a body of evidence cause a strong impact on the population's perception of the consumption of polyphenol-rich supplements, which consequently leads to high rates of polyphenol supplement consumption, even among specific groups, such as pregnant women, who have consumption rates of polyphenol-rich supplements of up to 57%. Not surprisingly, several experimental and clinical studies have stater to report that high polyphenol intake during gestation may induce metabolic and functional alterations in the offspring even during postnatal development. Considering the above information, the main objective of the present work was to evaluate if maternal naringin supplementation during the third week of pregnancy could induce redox and mitochondrial alterations in the offspring's brain during their postnatal development. We used pregnant Wistar rats that were divided into two groups: control and naringin (100 mg/kg/day) and were orally supplemented from gestational day 15 until gestational day 21. On postnatal days 1, 7, and 21 the offspring were euthanized, and the cerebellum, hippocampus, prefrontal cortex, and striatum were dissected. Moreover, we also collected the offspring and mother's trunk blood for metabolic profiling and evaluated the physical and neuromotor offspring's development during the first two weeks of life. Our results showed that the maternal naringin supplementation increased the offspring's total cholesterol and HDL levels but did not affect the other blood parameters analyzed. In addition, we also observed several redox alterations in a sex and region-specific manner in the offspring's brain, that were mainly found during the perinatal period. However, such alterations did not persist up to weaning age, probably because of the reduced NRF2 activation that was once triggered by naringin during the third week of gestation. On the other hand, the mitochondrial alterations found in the pups' cerebellum during the perinatal period were mostly sex-dependent and persisted up to postnatal day 21, in which they affected both sexes. At weaning age, the offspring born from supplemented rats showed increased mitochondrial functionality, superoxide production e reduced DRP1 protein content, suggesting reduced mitochondrial fission. Such alterations were accompanied by a 2-fold increase in sirtuin 3 protein content, reduced AKT activation, and no protein oxidative damage. Therefore, our findings suggest that maternal naringin supplementation induced a metabolic adaptation in the offspring's cerebellum probably by persistently stimulating the mitochondrial respiration and metabolism during the prenatal period. Such a stimulation consequently led to the sirtuin 3 activation and an alteration in the mitochondrial morphology to meet the metabolic adaptation. In conclusion, the data highlight the importance of carefully considering whether high polyphenol supplementation should be advised or not during gestation since our findings showed that naringin was capable to modulate the redox and mitochondrial signaling, which may consequently interfere during fetal neurogenesis and neurodevelopment.

Lista de abreviações

$\Delta\Psi_m$ - Potencial de membrana mitocondrial

$\cdot\text{OH}$ - Radical hidroxil

AKT - Proteína-cinase B

AMPK - Proteína-cinase dependente de cAMP

ATP - Trifosfato de adenosina

ADP - Difosfato de adenosina

AMP - Monofosfato de adenosina

CAT - Catalase

DCFH - Diclorofluoresceína

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DRP1 - *Dynamin related protein 1*

EROs - Espécies reativas de oxigênio

FAD⁺ - Dinucleotídeo de flavina-adenina oxidado

FADH₂ - Dinucleotídeo de flavina-adenina reduzido

FOXO3a - *Forkhead box protein class O3a*

GSK3 β - Glicogênio-sintase-cinase 3 β

GLO1 - Glioxalase 1

GPx - Glutaciona-peroxidase

GSH - Glutaciona reduzida

GSSG - Glutaciona oxidada

IRS - Substrato do receptor de insulina

LKB1 - Cinase hepática B1

MFN1 - Mitofusina 1

MG - Metilglioxal

mO₂⁻ - Superóxido mitocondrial

mPTP - Poro de permeabilidade transitória mitocondrial

mRNA - Ácido ribonucleico mensageiro

mTORC2 - Complexo 2 da proteína alvo da rapamicina em mamíferos

NAD⁺ - Dinucleotídeo de nicotinamida-adenina oxidado

NADH - Dinucleotídeo de nicotinamida-adenina reduzido

NADP⁺ - Dinucleotídeo de nicotinamida-adenina-fosfato oxidado

NADPH - Dinucleotídeo de nicotinamida-adenina-fosfato reduzido

NF-κB - Fator nuclear kappa B

NOS - Óxido nítrico-sintase

NOX - NADPH oxidase

NPC - Célula progenitora neural

NSC - Célula tronco neural

NRF2 - Fator nuclear derivado de eritróide 2

PGC1α - Coativador-1 alfa do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma
gama

PIP2 - Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato

PIP3 - Fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato

PI3K - Fosfoinositídeo-3-cinase

Prx - Peroxirredoxina

PTEN - Fosfatase homóloga à tensina

SIRT1 - Sirtuína 1

SIRT3 - Sirtuína 3

SNC - Sistema Nervoso Central

SOD - Superóxido-dismutase

STEM - Sistema de transporte de elétrons mitocondrial

INTRODUÇÃO

As origens desenvolvimentistas da saúde e da doença e o consumo materno de polifenóis durante a gestação como modulador metabólico na prole

As origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD, do inglês *Developmental Origins of Health and Disease*) é uma área de pesquisa que tem o objetivo de entender como intervenções durante os períodos críticos do desenvolvimento de mamíferos podem programar o metabolismo da prole e modificar a susceptibilidade de desenvolver doenças crônicas na vida adulta (SUZUKI, 2018). Tal janela de desenvolvimento crítico compreende os primeiros mil dias de vida de um indivíduo, compreendendo desde o momento da concepção até os dois primeiros anos pós-natal (SUZUKI, 2018). No entanto, outros trabalhos já demonstram que o estilo de vida materno e paterno antes da concepção bem como outros períodos da vida pós-natal, como a adolescência, também são momentos em que intervenções podem gerar alterações a longo prazo na vida de um indivíduo (WADHWA et al., 2009; SUZUKI, 2018; FITZGERALD; HOR; DRAKE, 2020).

Uma das primeiras evidências entre adversidades durante o período gestacional e o maior risco de desenvolver doença crônica na vida adulta foi encontrada por David Barker e Clive Osmond em 1986 (BARKER; OSMOND, 1986). Nessa época os autores realizaram um estudo longitudinal nos filhos(as) de mães subnutridas durante a gestação devido à escassez de alimentos durante a segunda guerra mundial, e constataram que tal adversidade materna estava fortemente relacionada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares na vida adulta de seus descendentes (BARKER; OSMOND, 1986). A partir

dessas e outras evidências, os mesmos autores também propuseram a hipótese do fenótipo poupador, na qual o feto que se desenvolveu em condições de escassez de nutrientes adapta seu metabolismo para ser mais eficiente, também prevendo um ambiente pós-natal com poucos nutrientes disponíveis (HALES C. NICHOLAS; BARKER, 2012). No entanto, após o nascimento, quando o indivíduo é introduzido a uma dieta adequada ou hipercalórica, o metabolismo programado durante o período fetal não se desenvolveu para lidar com o excesso constante de nutrientes, e portanto, leva ao desenvolvimento de doenças crônicas (SILVEIRA et al., 2007).

Tais evidências e conclusões demonstram também que intervenções na dieta materna durante a gestação possuem um alto potencial de induzir distúrbios metabólicos na prole (SILVEIRA et al., 2007). Sendo assim, com o avanço das pesquisas em DOHaD, diversos tipos de alterações na dieta materna, como a restrição calórica, a restrição proteica, a dieta com alto teor de açúcar e/ou lipídios vêm sendo relacionadas com a programação de diversos aspectos do metabolismo da prole (VEGA et al., 2016; MANDY; NYIRENDA, 2018; SILVA et al., 2019; STONE et al., 2019). Da mesma forma, o alto consumo de fitoquímicos, como os polifenóis, também vem sendo associado à programação do metabolismo fetal (BARENYS; MASJOSTHUSMANN; FRITSCHÉ, 2016).

Um estudo de bastante repercussão sobre o alto consumo de polifenóis durante a gestação foi o publicado por ZIELINSKY *et al.* (2010). Nesse trabalho os autores demonstraram que o alto consumo de polifenóis na dieta materna durante o terceiro trimestre da gestação estava associado à constrição prematura do *ductus arteriosus* fetal, o que pode levar a problemas como

hipertensão pulmonar e disfunção cardiovascular (ZIELINSKY et al., 2010; ZIELINSKY; BUSATO, 2013; ZIELINSKY; MARTIGNONI; VIAN, 2014). Em subsequente trabalho com um modelo experimental, os autores ainda comprovaram que o alto consumo de polifenóis foi capaz de inibir a produção de óxido nítrico (NO) e aumentar as defesas antioxidantes, levando então à constrição prematura do ducto por inibir a atividade vasodilatadora do NO (BUBOLS et al., 2014).

Nos últimos anos diversos trabalhos experimentais vêm explorando os efeitos transgeracionais do alto consumo de polifenóis sobre o metabolismo da prole, gerando uma grande quantidade de evidências (BARENYS; MASJOSTHUSMANN; FRITSCHKE, 2016). No entanto, apesar do grande volume de dados, concluir se a suplementação com polifenóis durante a gestação é benéfica ou não, exige considerar aspectos específicos de cada trabalho como a dose, o período e a frequência de administração, a via de administração, a formulação do composto fenólico, a biodisponibilidade e principalmente a presença de alguma condição materna ou fetal que pode ser prejudicial ao desenvolvimento da prole (VISCO et al., 2021b). Em modelos experimentais em que a suplementação materna ocorre sozinha, sem nenhuma outra condição materna ou fetal, a maioria das publicações indicam que ocorre um efeito prejudicial sobre o metabolismo da prole, como alterações neurocomportamentais, aumento da inflamação no tecido adiposo, defeitos no transporte de colesterol, aumento do risco aterogênico e resistência à insulina e adiponectina (DEL BAS et al., 2015; AJAREM et al., 2017; CAIMARI et al., 2017; MEENA et al., 2017; HACHUL et al., 2018a).

No entanto, como mencionado, a presença de alguma condição ou doença materna que possa afetar o desenvolvimento fetal parece ser um fator de alta relevância na modulação metabólica transgeracional induzida pela suplementação materna com polifenóis (DARBY et al., 2019; SILVA et al., 2019; VISCO et al., 2021b). Durante a gestação, o consumo de compostos fenólicos está associado a prevenção das alterações metabólicas em modelo de autismo, obesidade materna, diabetes gestacional e estresse materno (ZOU et al., 2017; FONTES-DUTRA et al., 2018; DARBY et al., 2019; DECKMANN et al., 2021; SANTOS-TERRA et al., 2021, 2022). Já durante o período perinatal, modelos de hipóxia-isquemia também indicam que a suplementação com polifenóis é capaz de prevenir ou tratar as alterações metabólicas, inflamatórias e neuroquímicas (QU et al., 2014; MIN et al., 2015; WU; LIU; GUO, 2019; VISCO et al., 2021b).

Mesmo com evidências divergentes em relação a suplementação dietética com polifenóis durante a gestação, é inegável que o consumo regular de polifenóis está associado a diversos benefícios à saúde em adultos (KUROWSKA et al., 2000; JUNG et al., 2003; APTEKMANN; CESAR, 2013; TUTUNCHI et al., 2020). Tais benefícios, que são facilmente encontrados em websites e divulgados na mídia, impactam a percepção da população em relação ao consumo de suplementos baseados em produtos naturais e ricos em polifenóis, onde pesquisas reportam que cerca de 60 a 95 % dos entrevistados declararam já ter utilizado algum suplemento e acreditam que o seu uso é seguro e não representa risco à saúde, mesmo considerando que tais suplementos possuem uma dosagem de polifenóis cerca de 10 vezes maior do que a quantidade normalmente consumida pela dieta (KLEPSEK et al., 2000; READ et

al., 2002; KIRKPATRICK; PAGE; HAYWARD, 2006; SNYDER et al., 2009; EKOR, 2014; ALGHADIR; IQBAL; IQBAL, 2022; SYED et al., 2022).

De maneira muito similar, os suplementos ricos em polifenóis também são bastante utilizados por grupos mais específicos da população, como gestantes. Em questionários aplicados na Austrália, Noruega e Reino Unido, entre 36 % e 57,8 % das participantes relataram usar algum tipo de suplemento derivado de ervas medicinais durante a gestação atual (NORDENG; HAVNEN, 2004; FORSTER et al., 2006; HOLST et al., 2009). Em um estudo de maior alcance com 9.459 participantes de diversos continentes, a média de consumo de suplementos ricos em polifenóis por gestantes foi de 28,9 %, sendo que na América do Sul foi de 17,9 %, com o maior índice registrado na Rússia de 69 % (KENNEDY et al., 2013). Na maioria dos casos, o consumo dos suplementos se iniciava por iniciativa própria ou de familiares e amigos, além de estar relacionado ao nível de escolaridade das respondentes (KENNEDY et al., 2013).

Sendo assim, esses dados adicionam ainda mais importância à necessidade de se conduzir estudos pré-clínicos para avaliar a segurança e eficácia da suplementação com polifenóis durante a gestação, lactação ou período perinatal (BARENYS; MASJOSTHUSMANN; FRITSCHÉ, 2016). Especialmente se considerarmos que a grande maioria dos suplementos derivados de ervas medicinais ou com polifenóis isolados não passam por ensaios pré-clínicos ou clínicos e ainda podem ser adquiridos facilmente sem a necessidade de uma prescrição e orientação médica e farmacêutica (RAYNOR et al., 2011; OWENS; BAERGEN; PUCKETT, 2014; BARENYS; MASJOSTHUSMANN; FRITSCHÉ, 2016).

Polifenóis e naringina: classificação, metabolismo e farmacocinética

Os polifenóis são metabólitos secundários de plantas que possuem ação protetora contra estressores bióticos ou abióticos, e possuem em sua estrutura química, ao menos um anel aromático ligado a uma hidroxila (VINSON, 2019). Além disso, os polifenóis são divididos em subclasses que foram elaboradas a partir das diferenças observadas em sua estrutura química, assim, permitindo agrupar os compostos com características físico-químicas semelhantes (SPENCER, 2010). Dentre tal classificação, os flavonoides se destacam como a subclasse mais extensamente estudada e diversa dos polifenóis (SPENCER, 2010).

Assim como os polifenóis, os flavonoides possuem uma estrutura química básica comum entre todos os compostos da classe, que é formada de dois anéis aromáticos e um anel heterocíclico, que são originados a partir dos precursores fenilpropanoide e malonil-CoA (Figura 4) (SPENCER, 2010). Apesar da semelhança na estrutura química básica, os flavonoides possuem uma diversidade muito grande, que é originada a partir das modificações químicas que são adicionadas nos anéis da estrutura básica, como glicosilação, metilação, e principalmente hidroxilação (RENDEIRO; RHODES; SPENCER, 2015). Dessa forma, é possível classificar os flavonoides em diferentes subclasses: antocianidinas, catequinas, flavonóis, flavanonas, flavonas e isoflavonas (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).

Uma vez ingeridos, os flavonoides são metabolizados no intestino pelos enterócitos e microbiota e, depois de absorvidos, ainda sofrem outras modificações químicas no fígado (MUROTA; NAKAMURA; UEHARA, 2018). Como grande parte dos flavonoides é encontrada na natureza em sua forma

glicosilada, a clivagem das moléculas de glicose é um importante passo para aumentar sua absorção (KENNEDY, 2014). Tal reação é catalisada por β -glicosidases intestinais e da microbiota, no entanto, a absorção das formas glicosiladas também ocorre via transportadores, como o cotransportador de sódio e glicose do tipo 1 (MUROTA; NAKAMURA; UEHARA, 2018). Além disso, a microbiota intestinal é capaz de metabolizar os flavonoides de diversas formas, como a clivagem dos anéis e oxidação-redução das hidroxilas presentes na estrutura química (MUROTA; NAKAMURA; UEHARA, 2018). Sendo assim, uma vez que as formas aglicona e fissionadas são absorvidas, as enzimas do metabolismo de fase II hepático catalisam a conjugação desses metabólitos, gerando as formas metiladas, glucoronizadas e sulfonadas (MUROTA; NAKAMURA; UEHARA, 2018).

Como pode ser observado, a quantidade e complexidade de reações metabólicas a que os flavonoides são submetidos após o seu consumo torna extremamente difícil identificar com exatidão qual o composto, metabólito, dose e via de administração ideal para obter os efeitos benéficos sobre a sinalização redox (VONG *et al.*, 2022). Apesar de tal dificuldade, é incontestável que o consumo regular desses compostos está relacionado à diversos benefícios para a saúde (LUCA *et al.*, 2020). Estudos em humanos mostram uma melhora nos níveis de colesterol HDL, pressão arterial e aumento das defesas antioxidantes plasmáticas (KUROWSKA *et al.*, 2000; JUNG *et al.*, 2003; DOW *et al.*, 2012; TUTUNCHI *et al.*, 2020; NAMKHAH *et al.*, 2021). Já em modelos experimentais, que buscam elucidar os mecanismos moleculares adjacentes, os trabalhos demonstram a modulação dos níveis de espécies reativas, da atividade das enzimas antioxidantes e das vias de sinalização relacionadas à regulação da

sinalização redox e metabolismo mitocondrial (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015; CHODARI et al., 2021; VONG et al., 2022). Ainda assim, mesmo que muitos aspectos relacionados aos mecanismos de ação dos flavonoides ainda necessitem ser desvendados, duas formas de ação baseadas em efeitos direto ou indireto sobre o organismo são propostas (RENDEIRO; RHODES; SPENCER, 2015).

Quando inicialmente descobertos, acreditava-se que os benefícios obtidos pelo consumo de flavonoides eram provenientes de sua capacidade de neutralizar diretamente as espécies reativas de oxigênio (EROs), prevenindo o dano às biomoléculas (FORMAN; DAVIES; URSINI, 2014). No entanto, com o passar do tempo, evidências vieram a demonstrar que as concentrações em que os flavonoides eram encontrados no meio celular eram insuficientes para garantir a neutralização das EROs e que, ao contrário do que se imaginava, uma vez oxidados os flavonoides tornam-se agentes pró-oxidantes, capazes de induzir a síntese de EROs (FORMAN; DAVIES; URSINI, 2014). Sendo assim, atualmente é proposto que os efeitos benéficos dos flavonoides são induzidos por um processo de hormese, onde os mesmos são capazes de (1) atuar indiretamente sobre a sinalização redox, proteínas e vias relacionadas pela produção de espécies reativas, particularmente o H_2O_2 , ou então (2) modular a atividade de enzimas ou vias de sinalização pela interação química direta com tais proteínas (ERLANK et al., 2011; STEVENS; REVEL; MAIER, 2018; MARTEL et al., 2019; KANNER, 2020). Tais mecanismos explicam, portanto, como mesmo em baixas concentrações, os flavonoides ainda modulam diversos processos celulares e são capazes de induzir uma resposta adaptativa do organismo (ERLANK et al., 2011; STEVENS; REVEL; MAIER, 2018; MARTEL et al., 2019; KANNER, 2020).

Apesar de ser uma classe muito diversa de compostos, alguns flavonoides são extensivamente estudados devido ao seu maior potencial terapêutico, como é o caso da naringina, nosso polifenol de interesse (Figura 1) (CHEN et al., 2016). A naringina é uma flavanona que apresenta duas moléculas de glicose ligadas em sua estrutura química básica e é predominantemente encontrada em frutas cítricas e em ervas medicinais orientais, o que a torna bastante presente como um componente da dieta no continente asiático (YUSOF; GHAZALI; KING, 1990). A presença das moléculas de glicose em sua estrutura, torna a naringina mais hidrossolúvel em comparação com a sua forma aglicona, a naringenina, que é o principal metabólito originado após a clivagem das moléculas de glicose (ALAM et al., 2014).

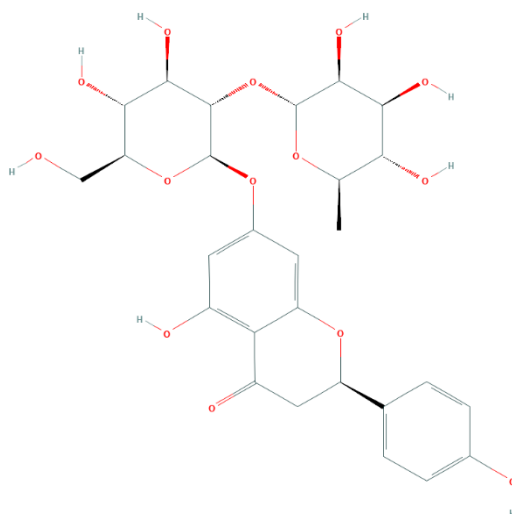


Figura 1: Estrutura química 2D da naringina (CID 442428). Imagem proveniente do PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Naringoside>).

A desglicosilação da naringina para naringenina, que, como discutido acima, também é catalisada pelas glicosidases intestinais e microbianas, impacta profundamente a capacidade de absorção do composto (CHEN et al., 2016). Em estudo farmacocinético utilizando um regime de três doses de

naringina (42 mg/kg) por dia durante oito dias, os autores demonstraram que ela possui menor meia-vida e concentração máxima plasmática em comparação com a naringenina (BAI *et al.*, 2020). Apesar de valores diferentes, o mesmo padrão é consistente entre machos e fêmeas adultos (BAI *et al.*, 2020). No entanto, é importante ressaltar que, assim como os demais flavonoides, a naringina sofre ampla metabolização pela microbiota intestinal, sendo que, até o momento, cerca de 13 metabólitos de origem microbiana foram reportados e, dentre esses, a naringenina também aparece como um dos principais, confirmando, novamente, o papel central que a forma aglicona possui em mediar os efeitos redox e metabólicos induzidos pelo consumo da naringina (CHEN *et al.*, 2018).

O extenso estudo da metabolização e farmacocinética da naringina e naringenina se dá devido ao seu grande potencial terapêutico, demonstrado em humanos e modelos experimentais (ALAM *et al.*, 2014). Atualmente, um estudo clínico financiado pelo National Institutes of Health avalia a segurança de diferentes doses para suplementação com naringina e naringenina em indivíduos adultos (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03582553>). Além disso, trabalhos já publicados demonstram o benefício da suplementação com ambos flavonoides em indivíduos com hipercolesterolemia, esteatose hepática e até mesmo em casos mais graves de infecção por SARS-CoV-2 (COVID-19) (JUNG *et al.*, 2003; ALBERCA *et al.*, 2020; TUTUNCHI *et al.*, 2020; NAMKHAH *et al.*, 2021). Já estudos experimentais, mais focados no sistema nervoso central, mostram efeito protetor de ambos os compostos em modelos das doenças de Alzheimer, Parkinson e diversos outros distúrbios cognitivos (PRAKASH; SHUR; KUMAR, 2013; SACHDEVA; KUHAD; CHOPRA, 2014; AHSAN *et al.*, 2020;

YANG et al., 2020). Em tais modelos, é possível observar que o efeito benéfico da suplementação com naringina e naringenina advém principalmente pela capacidade de modular a sinalização redox, respiração e metabolismo mitocondrial, o que contribui para restaurar a homeostase celular (PRAKASH; SHUR; KUMAR, 2013; SACHDEVA; KUHAD; CHOPRA, 2014; AHSAN et al., 2020; YANG et al., 2020). Assim, a suplementação com naringina ou naringenina induz à manutenção das células neurais existentes, a neurogênese adulta e restaura a função cognitiva (PRAKASH; SHUR; KUMAR, 2013; SACHDEVA; KUHAD; CHOPRA, 2014; AHSAN et al., 2020; YANG et al., 2020).

Espécies reativas de oxigênio: de subprodutos tóxicos do metabolismo ao sistema de sinalização redox

Desde o aumento dos níveis de oxigênio (O_2) atmosféricos, há aproximadamente 600 milhões de anos, organismos unicelulares e multicelulares evoluíram e incorporaram tal elemento químico em seu metabolismo, e conseqüentemente, os produtos gerados a partir do O_2 tornaram-se parte inerente da vida aeróbica no planeta terra (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Dentre tais produtos originados a partir da redução parcial do O_2 , as EROs são consideradas as de maior importância biológica (HALLIWELL, 2006). As EROs incluem um grupo de 10 compostos diferentes derivados do O_2 , porém, como orientado por Sies e Jones em diversos trabalhos, as EROs não são uma entidade química única e possuem diferentes características físico-químicas e devem, portanto, ser discutidas de forma específica (SIES; JONES, 2020). Além disso, é importante ressaltar que outras espécies reativas, como as de nitrogênio, cloro e enxofre também ocorrem em organismos unicelulares e

multicelulares e possuem relevância biológica, no entanto, como o título sugere, nosso foco será nas EROs (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

Inicialmente, quando descobertas, acreditava-se que devido à capacidade das EROs de oxidar biomoléculas e danificar componentes celulares, elas seriam subprodutos tóxicos do metabolismo e respiração celular, sendo relacionadas ao processo de envelhecimento e desenvolvimento de doenças crônicas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Dessa forma, iniciou-se uma corrida em busca de alternativas terapêuticas que pudessem eliminar as EROs com o objetivo de prevenir ou tratar tais doenças (HALLIWELL, 2006). No entanto, a eliminação indiscriminada das EROs demonstrou-se ineficaz como um método de tratamento, sugerindo que elas poderiam ser algo mais do que apenas subprodutos tóxicos do metabolismo celular (LUSHCHAK, 2014). Assim, com o avanço de décadas de pesquisa, novas evidências foram, aos poucos, demonstrando que as EROs na verdade possuem função sinalizadora altamente dinâmica, regulando diversas funções celulares diferentes, como a secreção hormonal, a diferenciação e morte celular (SIES *et al.*, 2022).

A partir dessas evidências, houve uma mudança na forma de entender e pesquisar os impactos das EROs na função e metabolismo celular, que passaram a ser estudadas do ponto de vista de uma rede de sinalização (SIES, 2017). Sendo assim, o termo sinalização redox foi elaborado para descrever essa rede de moléculas sinalizadoras que, como descrito por Sies e Jones, compartilha características de outras vias de sinalização, como a do cálcio e as modificações por fosforilação, acetilação e metilação (SIES; JONES, 2020). Dentre tais características que são fundamentais para entender a sinalização redox, estão: (1) A fonte e local de produção de determinada ERO; (2) Quais são

as proteínas ou moléculas alvo da ERO; (3) Quais são as proteínas que atuam na eliminação da ERO, e (4) como o gradiente de concentração da ERO é controlado por membranas e transportadores (Figura 2) (SIES; JONES, 2020).

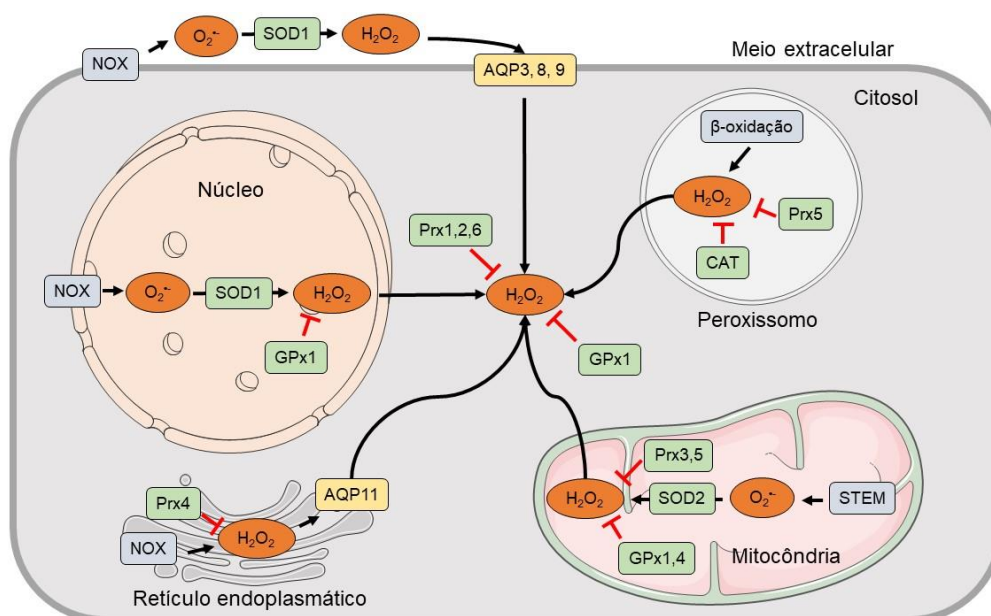


Figura 2: Figura demonstrando a compartimentalização da produção, eliminação, transporte e principais locais de reação das principais EROS com função sinalizadora. Nas caixas estão representadas estruturas geradoras (cinza), eliminadoras (verde) e transportadoras (amarelas) das principais EROS com função sinalizadora. Os círculos laranjas representam as EROS. As linhas em vermelho indicam eliminação da ERO pelas enzimas. As linhas em preto indicam a geração, reações e transporte da ERO no ambiente intracelular. AQP: aquaporinas; GPx: glutathiona-peroxidase; NOX: NAPH-oxidase; Prx: peroxirredoxinas; SOD: superóxido dismutase; STEM: sistema de transporte de elétrons mitocondrial. Figura adaptada de SIES e JONES (2020). Partes da figura foram elaboradas utilizando o Servier Medical Art (<https://smart.servier.com/>). Servier é licenciado sob à Creative Commons Attribution 3.0 Unported License (<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

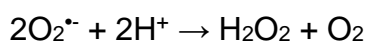
Como mencionado anteriormente, as EROs são um grupo formado de diversos compostos derivados do O_2 , no entanto, as mais bem descritas e relevantes em termos de sinalização redox são o radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil ($\bullet OH$) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Como demonstrado pela fórmula química, o $O_2^{\bullet -}$ e o $\bullet OH$

são radicais livres, pois contém um elétron desemparelhado em sua camada de valência (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Esta diferenciação é fundamental em se tratando da relevância de cada espécie reativa na sinalização redox, visto que a reatividade e capacidade de difusão em membranas são características físico-químicas diretamente relacionadas à estabilidade da ERO, e são extremamente relevantes em determinar o grau de especificidade e alcance das reações em que tal ERO participa no ambiente celular (SIES; JONES, 2020).

O $O_2^{\cdot-}$ é gerado a partir da redução parcial do O_2 que pode ocorrer de forma não catalisada pelo extravasamento de elétrons no sistema de transporte de elétrons mitocondrial (STEM) ou então de forma catalisada por diversas enzimas, principalmente as NADPH-oxidases (NOXs) (BEDARD; KRAUSE, 2007; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). A concentração celular do $O_2^{\cdot-}$, de forma generalizada, é estimada em torno de 10^{-11} M, e possui baixa capacidade de difusão pelas membranas e uma meia vida curta, de aproximadamente 10^{-6} segundos (s), fazendo com que o $O_2^{\cdot-}$ atue de forma mais localizada em seu sítio de produção, reagindo principalmente com centros ferro-enxofre de metaloproteínas (CHANCE; SIES; BOVERIS, 1979; SIES; JONES, 2020). No entanto, a maior parte do $O_2^{\cdot-}$ é dismutado a H_2O_2 e O_2 , reação que pode ocorrer de forma espontânea ou principalmente catalisada pela enzima superóxido-dismutase (SOD), prontamente neutralizando o $O_2^{\cdot-}$ (PARASCANDOLO; LAUKKANEN, 2019).

Dessa forma, além de evitar o acúmulo de altas concentrações do $O_2^{\cdot-}$ e o consequente dano oxidativo às biomoléculas, a SOD também contribui como a principal fonte de H_2O_2 , que é reconhecidamente a principal ERO envolvida na sinalização redox (LUSHCHAK, 2014). Portanto, para garantir que o H_2O_2 seja

sintetizado por toda a célula, a SOD possui três isoformas distribuídas em diferentes compartimentos subcelulares (PARASCANDOLO; LAUKKANEN, 2019; SIES; JONES, 2020). A SOD1 é encontrada no citoplasma, núcleo e no espaço intermembranas da mitocôndria, e a SOD2 é encontrada na matriz mitocondrial. Já a SOD3 está predominantemente localizada na membrana celular externa (PARASCANDOLO; LAUKKANEN, 2019). Todas as isoformas da SOD catalisam a seguinte reação:



Ao contrário do $\text{O}_2^{\cdot-}$, o H_2O_2 não é um radical livre e, portanto, possui características físico-químicas que o tornam a ERO com maior potencial sinalizador (SIES; JONES, 2020). A maior parte do H_2O_2 é produzido a partir do $\text{O}_2^{\cdot-}$ gerado pelas NOXs e mitocôndrias, que contribuem com 40% e 45% do total, respectivamente, demonstrando o papel central de tais estruturas na sinalização redox (WONG; BENOIT; BRAND, 2019). O H_2O_2 possui uma meia vida de 10^{-5} segundos e sua concentração celular, estimada de forma geral entre 1 e 10 nM, varia entre os compartimentos celulares e de forma temporal, conforme os processos que a célula executa, tais como ciclo celular, apoptose, diferenciação, entre outros (CHANCE; SIES; BOVERIS, 1979; LYUBLINSKAYA; ANTUNES, 2019). Além disso, o H_2O_2 possui maior permeabilidade em membranas e pode ser transportado entre compartimentos celulares pelas aquaporinas 3, 5, 8, 9 e 11 (BIENERT; CHAUMONT, 2014; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Uma vez sintetizado, o H_2O_2 pode exercer sua função sinalizadora por oxidar grupamentos tióis (SH) em resíduos de cisteína em proteínas alvo ou ser reduzido (Figura 3) (ZEIDA et al., 2019; SIES; JONES, 2020).

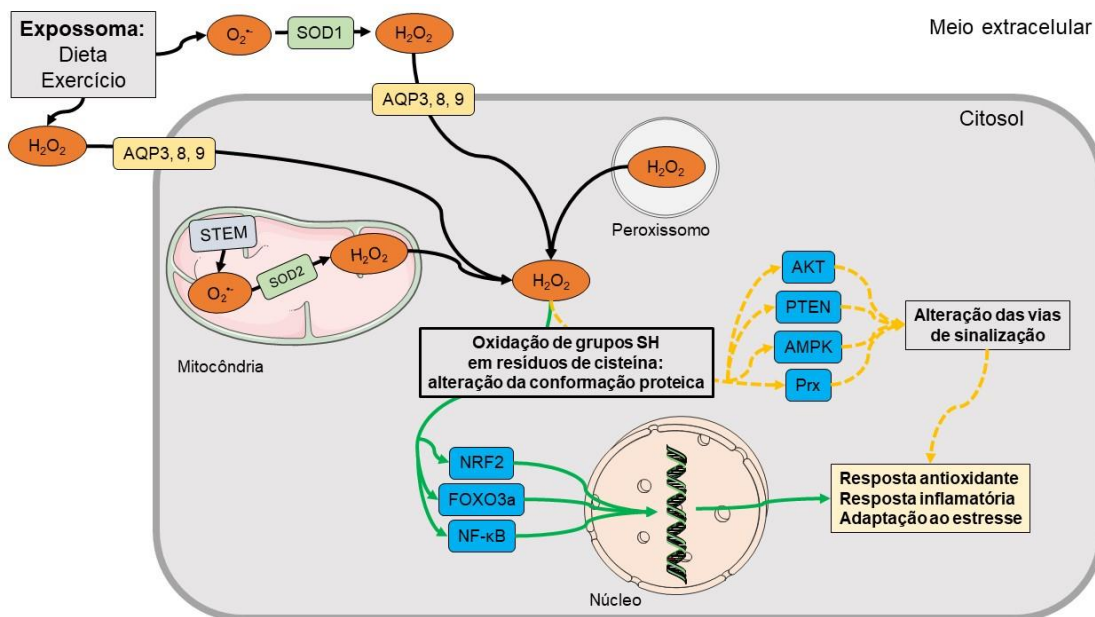
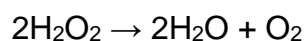
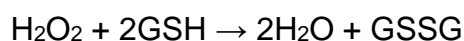


Figura 3: Figura esquematizando a função sinalizadora do H₂O₂ durante os processos de resposta antioxidante, inflamatória e adaptação ao estresse pela oxidação de grupos SH em proteínas alvo. Figura adaptada de SIES e JONES, (2020). As linhas pretas representam a geração e transporte do H₂O₂. As linhas verdes representam ativação da proteína alvo, e as linhas laranja tracejadas indicam que a ativação ou inibição da proteína alvo é dependente da concentração do H₂O₂. AKT: proteína-cinase B. AMPK: proteína-cinase dependente de cAMP. AQP: aquaporina. H₂O₂: peróxido de hidrogênio. FOXO3a: *forkhead box protein class O3a*. NRF2: fator nuclear derivado de eritróide 2. NF-κB: fator nuclear kappa B. Prx: peroxirredoxina. PTEN: fosfatase homóloga à tensina. STEM: sistema de transporte de elétrons mitocondrial. Partes da figura foram elaboradas utilizando o Servier Medical Art (<https://smart.servier.com/>). Servier é licenciado sob a Creative Commons Attribution 3.0 Unported License (<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

Como mencionado, o H₂O₂ também pode ser eliminado pela ação das peroxidases presentes no sítio de produção da ERO, como a catalase (CAT), a glutationa-peroxidase (GPx) e as peroxirredoxinas (Prx) distribuídas por diversos compartimentos celulares (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). A CAT, por exemplo, é encontrada nos peroxissomos, e catalisa a conversão do H₂O₂ gerado a partir do metabolismo dessas organelas numa reação dependente de Fe²⁺, elemento que faz parte da estrutura do seu sítio ativo (AEBI, 1984; ZEIDA *et al.*, 2019). A reação catalisada pela CAT é descrita a seguir:

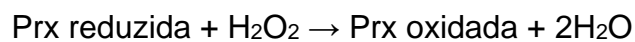


Ao contrário da CAT que está restrita aos peroxissomos, a GPx e Prx são amplamente encontradas em diversos compartimentos celulares como na mitocôndria, citosol, retículo endoplasmático, núcleo e porção extracelular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015; MBEMBA FUNDU et al., 2020). A GPx possui um resíduo de selenocisteína em seu sítio ativo e até o momento oito isoformas foram identificadas (URSINI; MAIORINO, 2013). Além disso, a conversão do H₂O₂ à H₂O requer a oxidação de duas moléculas de glutathiona reduzida (GSH) para reduzir novamente o resíduo de selenocisteína após a reação, o que dá origem à glutathiona oxidada (GSSG) (URSINI; MAIORINO, 2013). Apesar da GPx possuir alta afinidade pelo H₂O₂, ela também pode atuar na redução de diversos outros hidroperóxidos orgânicos, visto que possui pouca especificidade (URSINI; MAIORINO, 2013). Dessa forma, a GPx é uma importante enzima regulando os níveis de H₂O₂ e, conseqüentemente, a sinalização redox (URSINI; MAIORINO, 2013; SIES; JONES, 2020). A reação catalisada pela GPx é descrita a seguir:



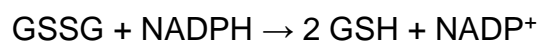
Igualmente importantes no controle do estado redox, as Prx possuem 6 isoformas distribuídas de forma semelhante à GPx, e atuam de maneira mais específica sobre o H₂O₂ (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015; PERKINS *et al.*, 2015). Essa maior especificidade se deve a presença de um resíduo de cisteína no sítio ativo que contém um S⁻, tornando a reação energeticamente mais favorável com o H₂O₂ (PERKINS *et al.*, 2015; SIES; JONES, 2020). Uma vez que a reação é completada, a cisteína presente no sítio ativo é reduzida novamente pela ação das tioredoxinas ou sulfiredoxinas (PERKINS *et al.*, 2015). É importante notar que um aumento na concentração de H₂O₂, mesmo em níveis

fisiológicos, é capaz de inibir de forma temporária a atividade das Prx (WOOD; POOLE; KARPLUS, 2003). Devido essa inibição, foi proposto que as Prx atuam na sinalização redox de forma mais refinada, mantendo níveis basais de H₂O₂, porém, permitindo o acúmulo compartimentalizado do mesmo durante a transdução do sinal (WOOD; POOLE; KARPLUS, 2003). A reação catalisada pelas Prx é descrita a seguir:



Apesar de o H₂O₂ possuir relativa baixa reatividade, sua produção em compartimentos celulares ou tecidos que possuam altas concentrações de metais pode induzir a síntese de [•]OH devido à redução parcial do H₂O₂ (CHANCE; SIES; BOVERIS, 1979). O [•]OH é produzido principalmente em locais ricos em Fe³⁺ e Cu²⁺ pelas reações de Fenton e Haber-Weiss, respectivamente (HALLIWELL, 2009). Dentre as três EROs que discutimos, o [•]OH é a que apresenta a meia-vida mais curta, de 10⁻⁹ segundos, e maior reatividade (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Apesar de sua produção estar geralmente contida a compartimentos ricos em metais e não apresentar capacidade de difusão em membranas, o [•]OH é extremamente danoso, e prontamente reage com biomoléculas próximas, oxidando carboidratos, lipídios, aminoácidos e ácidos nucleicos (DRÖGE, 2002). Tais características tornam pouco provável que o [•]OH tenha alguma função sinalizadora, sobretudo considerando-se que até o momento não se tenha identificado enzima capaz de neutralizá-lo (SIES; JONES, 2020). Nesse contexto, antioxidantes não-enzimáticos, como a GSH, podem ser capazes de reagir e neutralizar o [•]OH antes que ele reaja com biomoléculas mais próximas (ISKUSNYKH; ZAKHAROVA; PATHAK, 2022).

A GSH é um tripeptídeo formado por glutamato, cisteína e glicina, e é sintetizada no citoplasma pelas enzimas γ -glutamilcisteína-ligase e glutathione-sintetase (ISKUSNYKH; ZAKHAROVA; PATHAK, 2022). Sua concentração celular é estimada entre 0,1 a 10 mM, evidenciando sua importância na regulação do equilíbrio e sinalização redox celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Dessa forma, a GSH é considerada uma das primeiras defesas da célula contra uma elevação nos níveis de EROs por reagir diretamente com o $\cdot\text{OH}$, porém seu papel de maior relevância se dá, como discutido anteriormente, por ser utilizada como doador de elétrons em reações enzimáticas que visam neutralizar as EROs, como pela GPx (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015; SIES; JONES, 2020). Assim, depois de oxidada a GSSG, a GSH pode ser reduzida novamente através da ação da enzima glutathione-redutase (GR), que utiliza NADPH como força redutora (URSINI; MAIORINO, 2013). A reação catalisada pela GR é descrita a seguir:



Além disso, outra enzima que não atua diretamente sobre uma ERO também pode influenciar na regulação da homeostase e sinalização redox, como é o caso da glioxalase-1 (GLO1) (ALLAMAN; BÉLANGER; MAGISTRETTI, 2015). Esta é uma enzima que faz parte do sistema das glioxalases em conjunto com a GLO2 e tem como substrato o hemitioacetal, um composto que é formado pela reação espontânea da GSH com o metilglioxal (MG), um subproduto da glicólise, que é formado a partir da fragmentação espontânea do gliceraldeído-3-fosfato e da dihidroxiacetona (SOUSA SILVA *et al.*, 2013). Estima-se que cerca de 0,1 a 0,4% do fluxo da via glicolítica seja convertido a MG, no entanto, essa porcentagem pode ser maior, visto que o MG é altamente reativo com lipídios,

ácidos nucleicos e resíduos de lisina e arginina em proteínas, dando origem aos produtos de glicação avançada (AGE, do inglês *advanced glycation end-products*), que induzem processo inflamatório e estresse oxidativo através da interação com os receptores de AGE (SKAPARE *et al.*, 2012). Dessa forma, o sistema das glioxalases atua de duas maneiras: (1) evita o acúmulo de MG, produção dos AGEs e o consequente aumento supra fisiológico das EROs; e (2) restaura a GSH consumida durante a formação do hemitioacetil (ALLAMAN; BÉLANGER; MAGISTRETTI, 2015). As reações do sistema das glioxalases estão representadas na figura 4 abaixo.

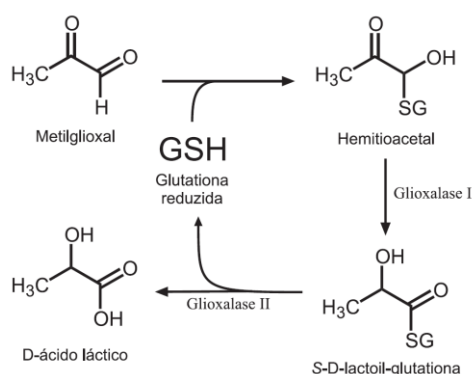


Figura 4: Sistema das glioxalases. Imagem embasada em ALLAMAN; BÉLANGER e MAGISTRETTI (2015).

Apesar de as enzimas e moléculas redox-ativas endógenas possuírem um papel central na modulação do equilíbrio e sinalização redox, outros compostos exógenos também são comprovadamente capazes de modular os níveis das EROs (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Esse é o caso dos “antioxidantes da dieta”, que são moléculas capazes de reagir diretamente com algumas EROs, como, por exemplo, as vitaminas C e E, evitando diretamente a oxidação de biomoléculas (HALLIWELL, 2006). Além disso, outros componentes dietéticos,

como os polifenóis, também são reconhecidos por sua capacidade de modular a sinalização redox (MARTEL *et al.*, 2019).

Como discutido até aqui, é essencial que os níveis das EROs sejam rigorosamente controlados de forma espaço-temporal por seus mecanismos de neutralização, sejam enzimáticos ou não, a fim de garantir que não ocorra um aumento exacerbado de oxidantes (Figura 5) (SIES; JONES, 2020). No entanto, em algumas condições o controle da produção e eliminação é alterado, e a perda desse equilíbrio pode levar ao aumento exacerbado da concentração de EROs e conseqüentemente ao dano oxidativo em biomoléculas, estado denominado de distresse oxidativo (SIES, 2015; SIES; BERNDT; JONES, 2017). Esse estado pode ocorrer de diversas maneiras, como: (1) alterações nos níveis de antioxidantes não enzimáticos; (2) alteração da atividade, expressão ou de compartimentalização das enzimas que atuam sobre as EROs; e (3) pela produção excessiva de espécies reativas, podendo ocorrer um dos fatores mencionados ou até mesmo ambos concomitantemente (SIES, 2015; SIES; BERNDT; JONES, 2017). Tais alterações são comumente encontradas em doenças crônicas em diferentes tecidos, como nas doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e neurodegenerativas (BEDARD; KRAUSE, 2007; PARASCANDOLO; LAUKKANEN, 2019).

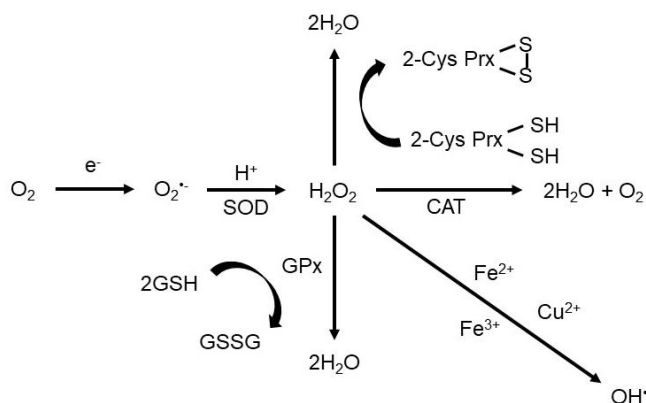


Figura 5: Figura demonstrando a inter-relação entre as reações redox descritas no texto. CAT: catalase. GSH: glutathiona reduzida. GSSG: glutathiona oxidada. GPx: glutathiona-peroxidase. H₂O₂: peróxido de hidrogênio. O₂^{•-}: radical superóxido. •OH: radical hidroxil. Prx: peroxirredoxina. SOD: superóxido-dismutase.

No entanto, quando a elevação dos níveis de EROs é induzida por alguma agente externo e ocorre de forma controlada e moderada, o organismo pode adaptar-se a esse aumento pela ativação de fatores de transcrição que irão induzir síntese das enzimas e moléculas redox ativas (LI; YANG; SUN, 2019). Esse efeito, denominado hormese, é capaz de aumentar a resistência do organismo a futuros distúrbios que possam afetar a homeostase redox, metabolismo e função celular (CALABRESE et al., 2020b). Diversas intervenções estão relacionadas ao processo de hormese, como o exercício físico, a restrição calórica e o consumo regular de polifenóis, que são capazes de conferir uma proteção e reduzir o risco de desenvolvimento de doenças crônicas (FRANCO; NAVARRO; MARTÍNEZ-PINILLA, 2019; GUREEV; SHAFOROSTOVA; POPOV, 2019; DAVINELLI et al., 2020). Dessa forma, fica claro que a sinalização redox possui um papel central tanto na saúde quanto na doença, a tornando assim um alvo promissor para intervenções, sejam elas farmacológicas ou de estilo de vida, que visem tratar patologias, prevenir doenças crônicas e melhorar a saúde de um indivíduo (JONES; SIES, 2015).

O papel do metabolismo e da sinalização mitocôndria-núcleo em mediar a biogênese e as adaptações morfológicas mitocondriais

A mitocôndria é conhecida por ser uma organela central no controle de processos altamente especializados como, por exemplo, a produção de trifosfato de adenosina (ATP, do inglês *adenosine triphosphate*), o metabolismo energético, a diferenciação celular, a apoptose e a resposta adaptativa a estressores (HOOD *et al.*, 2018). Tal controle sobre esses processos se dá pela modulação de vias de sinalização que são finamente reguladas e integradas com a sinalização nuclear, eixo denominado de comunicação mitocôndria-núcleo ou mitonuclear (QUIRÓS; MOTTIS; AUWERX, 2016). A comunicação entre essas duas organelas e as respostas celulares é controlada por vias de sinalização que respondem principalmente, a variações na quantidade de substratos energéticos, por serem capazes de detectar alterações nas razões de monofosfato de adenosina (AMP, do inglês *adenosine monophosphate*)/ATP e dos dinucleotídeos de nicotinamida-adenina oxidado e reduzido (NAD^+/NADH , do inglês *oxidized and reduced nicotinamide adenine dinucleotide*, respectivamente), o que possibilita a correta manutenção e ajuste do metabolismo, da morfologia mitocondrial e da produção de ATP para melhor atender as necessidades celulares (QUIRÓS; MOTTIS; AUWERX, 2016).

A produção de ATP é um processo complexo que envolve diversas etapas que irão induzir a formação de um gradiente eletroquímico entre o espaço intermembrana e a matriz mitocondrial, que será utilizado como força eletromotriz para síntese das moléculas de ATP (NELSON; COX, 2012). Inicialmente, as coenzimas NADH e dinucleotídeo de flavina-adenina reduzido (FADH_2) captam os elétrons provenientes da oxidação dos intermediários

metabólicos do ciclo de Krebs (CK), que também ocorre na matriz mitocondrial (NELSON; COX, 2012). Em seguida, ambas coenzimas transferem os elétrons provenientes da oxidação dos substratos para as enzimas do sistema de transporte de elétrons mitocondrial (STEM), que está localizado na membrana mitocondrial interna, e é responsável por catalisar a transferência de prótons (H^+) da matriz para o espaço intermembranas (NELSON; COX, 2012). Este sistema é composto por quatro enzimas diferentes que recebem elétrons do NADH ou $FADH_2$ (NELSON; COX, 2012).

Os integrantes do STEM são denominados complexo I a IV, e diferem de acordo com a sua fonte de elétrons e a quantidade de prótons que são capazes de bombear através da membrana mitocondrial interna (MMI) (NELSON; COX, 2012). O complexo I (NADH-desidrogenase) recebe elétrons do NADH e transfere quatro H^+ , e o complexo II (succinato-desidrogenase) oxida succinato em fumarato, reduzindo o dinucleotídeo de flavina-adenina oxidado (FAD^+) em $FADH_2$ (NELSON; COX, 2012). Após, ambos os complexos transferem os elétrons para a ubiquinona, que é reduzida a ubiquinol. Após, o complexo III (ubiquinona:citocromo *c*-oxidoreductase) catalisa a transferência de elétrons do ubiquinol para o citocromo *c* e bombeia quatro H^+ para o espaço intermembranas (NELSON; COX, 2012). Por último, o complexo IV (citocromo-oxidase) oxida o citocromo *c* e transfere os elétrons para o O_2 , que é reduzido à água. Nessa última etapa também são transferidos dois H^+ através da MMI (NELSON; COX, 2012).

Uma vez que o gradiente eletroquímico é formado, o espaço intermembranas encontra-se com alta concentração de H^+ em relação à matriz mitocondrial (NELSON; COX, 2012). A ATP-sintase usa dessa diferença de

concentração e age como um canal permitindo a passagem dos H^+ do espaço intermembranas para matriz, e utiliza da energia liberada pela dispersão do potencial eletroquímico para catalisar a síntese de ATP a partir de difosfato de adenosina (ADP, do inglês *adenosine diphosphate*) e fosfato inorgânico (NELSON; COX, 2012). Além disso, outras proteínas e compostos, como as proteínas desacopladoras (UCP do inglês *uncoupling proteins*) e os polifenóis são capazes de dispersar o gradiente eletroquímico independentemente da síntese de ATP por serem capazes de oferecer uma rota alternativa de passagem dos H^+ através da MMI (STEVENS; REVEL; MAIER, 2018; NICHOLLS, 2021).

No entanto, apesar da transferência de elétrons ser um processo central para manutenção dos níveis de ATP celular, é importante notar que este não é uma etapa à prova de falhas (NELSON; COX, 2012). Estima-se que cerca de 80 a 95% do oxigênio captado pela célula seja consumido pela respiração celular, no entanto, cerca de 3% desse fluxo acaba sendo extravasado do STEM. Esse extravasamento ocorre principalmente nos complexos I e III, onde os elétrons que saem do sistema são rapidamente captados pelo O_2 presente na matriz mitocondrial, resultando na sua redução ao radical superóxido mitocondrial ($mO_2^{\cdot-}$) (SIES; JONES, 2020). Como discutido na primeira parte da introdução, o $mO_2^{\cdot-}$ é prontamente dismutado para H_2O_2 pela SOD2, principal isoforma mitocondrial da SOD (BHASKAR *et al.*, 2020). Em condições fisiológicas, o aumento controlado de ambos $mO_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 serve como uma forma de transmitir sinal e estimular vias adaptativas, no entanto, quando tal aumento é supra-fisiológico, ocorre o dano à mitocôndria e sua consequente disfunção e perda do potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$), o que pode culminar em

diversos processos, como, por exemplo, a reciclagem da organela danificada ou indução de morte celular (JEŽEK; COOPER; STRICH, 2018; SIES *et al.*, 2022). Tanto a resposta adaptativa ou ao dano mitocondrial induzido pelas EROs é regulada por diversas vias de sinalização celular, que serão brevemente discutidas nos próximos parágrafos (QUIRÓS; MOTTIS; AUWERX, 2016; HOOD *et al.*, 2018).

Dentre as vias de sinalização e proteínas mais bem estabelecidas que respondem as variações nos níveis de substratos ou demanda energética estão a proteína-quinase dependente de cAMP (AMPK, do inglês *adenosine monophosphate-activated protein kinase*) e as sirtuínas (SIRT) (GARCIA; SHAW, 2017; SINGH *et al.*, 2018). A AMPK é uma proteína formada por três diferentes subunidades que é ativada pela fosforilação no resíduo de Thr172 pela cinase hepática B1 (LKB1, do inglês *liver kinase B1*), que por sua vez responde ao aumento nos níveis de AMP (STEINBERG; CARLING, 2019). Uma vez ativada, a AMPK é capaz de induzir uma mudança no metabolismo celular, favorecendo o catabolismo dos substratos e reservas energéticas para restaurar os níveis de ATP (VADLAKONDA *et al.*, 2013). Esse processo é mediado pela ativação da via glicolítica, da β -oxidação, catabolismo de aminoácidos e estimulação do CK (ZHANG *et al.*, 2021). Além disso, a AMPK também é capaz de induzir a biogênese mitocondrial e resposta antioxidante, pois é capaz de fosforilar e ativar o coativador-1 alfa do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PGC-1 α , do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α*), os fatores FOXO (FOXO, do inglês *forkhead box class O*) e a SIRT1, que se somam aos processos catabólicos induzidos pela AMPK (GARCIA; SHAW, 2017).

Já as SIRT6 atuam de forma semelhante a AMPK, no entanto, respondem ao aumento da demanda energética ou depleção dos substratos energéticos por serem capazes de detectar um aumento na razão NAD⁺/NADH (SINGH *et al.*, 2018). As SIRT6 são uma grande família de lisina desacetilases amplamente distribuídas em diversos compartimentos celulares (SIDOROVA-DARMOS; SOMMER; EUBANKS, 2018). Até o momento foram identificadas 7 isoformas diferentes de SIRT6, sendo que a SIRT1 e SIRT3 são as duas com funções mais bem estabelecidas na literatura (SIDOROVA-DARMOS; SOMMER; EUBANKS, 2018). A SIRT1 foi o primeiro membro da família descoberta e está amplamente distribuída no citosol e núcleo, onde é capaz de regular diretamente a expressão gênica (MICHISHITA *et al.*, 2005). No citosol, a SIRT1 é capaz de desacetilar e ativar o fator nuclear derivado de eritróide 2 (NRF2, do inglês *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*), PGC1 α e o fator de transcrição mitocondrial A (mtTFA, do inglês *mitochondrial transcription factor A*), também induzindo o catabolismo de substratos, a biogênese mitocondrial e a resposta antioxidante (D'ANGELO *et al.*, 2021). Além disso, a SIRT3, que é principalmente encontrada nas mitocôndrias, é capaz de ativar efeitos mais localizados na organela por regular a acetilação do proteoma mitocondrial, sendo capaz de atuar e estimular diretamente os complexos do STEM, às acil-CoA desidrogenases de cadeia longa e muito longa, SOD2, UCP1 e está relacionada ao processo de fusão mitocondrial (SIDOROVA-DARMOS; SOMMER; EUBANKS, 2018).

A AKT é uma das mais bem estudadas proteínas cinase e é conhecida por conectar diversas vias de sinalização que regulam o metabolismo da glicose, apoptose e diferenciação celular, dessa forma, também influenciando o metabolismo e morfologia mitocondrial (VADLAKONDA *et al.*, 2013). Diversos

fatores, como a disponibilidade de substratos energéticos, hormônios e fatores de crescimento são responsáveis por induzir a fosforilação da AKT nos resíduos de Thr308 e Ser473 levando a sua máxima ativação (WANG *et al.*, 2017). Outro modo de regulação da fosforilação da AKT se dá pela desacetilação de um resíduo de lisina no sítio de fosforilação da AKT que é mediada pelas SIRT6 permitindo, assim, a ativação da proteína cinase (PILLAI; SUNDARESAN; GUPTA, 2014). Uma vez ativada, a AKT pode regular indiretamente a translocação do NRF2 via inibição da glicogênio-sintase-cinase 3 β (GSK3 β , do inglês *glycogen synthase kinase-3 β*) e outros trabalhos já vem relacionando a ativação da AKT com o controle da fosforilação da *dynamamin related protein 1* (DRP1), demonstrando seu importante papel na regulação do metabolismo e morfologia mitocondrial (JU *et al.*, 2019; ZENG *et al.*, 2020b; XIE *et al.*, 2022).

Visto que a mitocôndria é uma organela altamente responsiva a estímulos metabólicos ou estressores, foram desenvolvidos mecanismos que adaptam sua morfologia para atender as necessidades de cada estado energético e metabólico em que a célula se encontra (Figura 6) (WAI; LANGER, 2016). Dessa forma, a morfologia das mitocôndrias de uma determinada célula está intimamente relacionada a sua função, variando de células que demandam maior ou menor produção de ATP (MILONE; BENARROCH, 2012). Uma vez que uma nova mitocôndria é gerada, ela passa a se integrar na rede de mitocôndrias da célula, e com isso participa das adaptações morfológicas pelo processo de dinâmica mitocondrial (YU; WANG; YOON, 2015). Esse processo é mediado por dois eventos opostos, denominados de fusão e fissão mitocondrial que são catalisados por diferentes proteínas que atuam na união ou no estrangulamento

e separação da membrana mitocondrial externa (MME) e da MMI (MISHRA; CHAN, 2016).

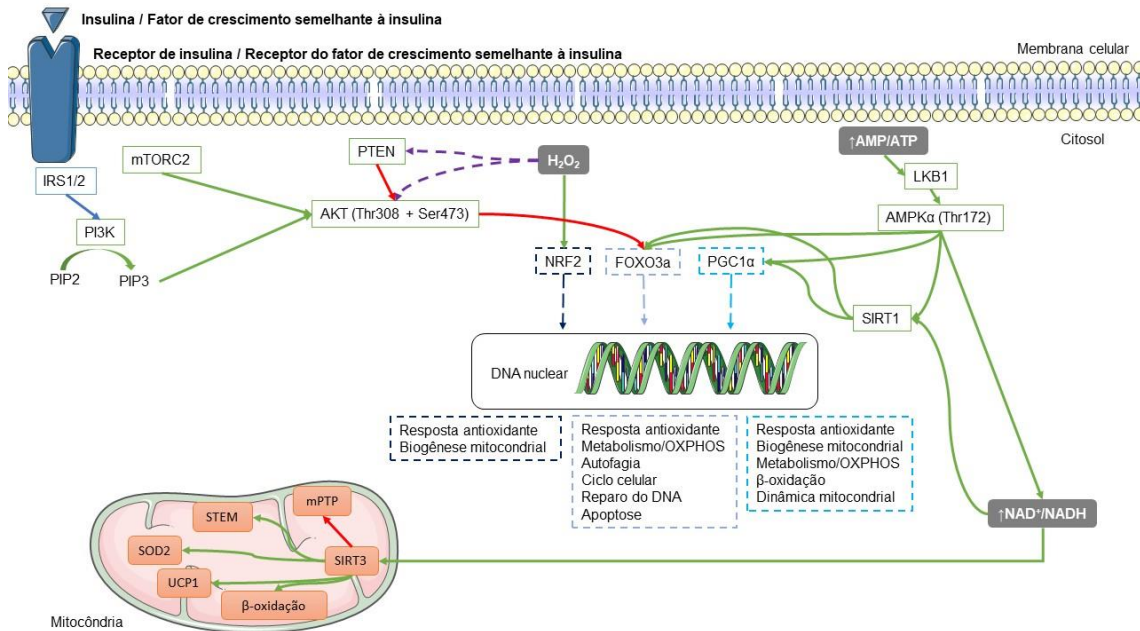


Figura 6: Representação parcial das vias de sinalização envolvidas na regulação da biogênese mitocondrial e da resposta antioxidante. A cor das setas determina o efeito da proteína ou molécula: ativa (verde), inibe (vermelho), ou se o efeito de inibição ou ativação sobre a proteína alvo é condicionado à concentração da molécula sinalizadora (linha tracejada em roxo). AMP: monofosfato de adenosina. AMPK: proteína-cinase dependente de cAMP. ATP: trifosfato de adenosina. AKT: proteína-cinase B. FOXO3a: forkhead box class O 3a. H₂O₂: peróxido de hidrogênio. IRS 1/2: substrato do receptor de insulina 1 e 2. LKB1: cinase hepática B1. mPTP: poro de permeabilidade transitória mitocondrial. mTORC2: complexo 2 da proteína alvo da rapamicina em mamíferos. NAD⁺: Dinucleotídeo de nicotinamida-adenina oxidado. NADH: Dinucleotídeo de nicotinamida-adenina reduzido. NRF2: Fator nuclear derivado de eritróide 2. PIP2: fosfatidilinositol-4,5-bifosfato. PIP3: fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato. PI3K: fosfoinositídeo-3-cinase. PGC1α: coativador-1 alfa do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama. PTEN: fosfatase homóloga à tensina. SIRT1: sirtuína 1. SIRT3: sirtuína 3. SOD2: superóxido-dismutase 2. STEM: sistema de transporte de elétrons mitocondrial. UCP1: proteína desacopladora 1. Partes da figura foram elaboradas utilizando o Servier Medical Art (<https://smart.servier.com/>). Servier é licenciado sob à Creative Commons Attribution 3.0 Unported License (<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

A fissão mitocondrial, como o nome sugere, é o processo que catalisa a separação de uma mitocôndria em duas, e está bastante relacionado a um estado de excesso de nutrientes, como na obesidade e diabetes mellitus, e a

disfunção mitocondrial (LIESA; SHIRIHAI, 2013). Tal processo inicia-se com a marcação de um ponto de contato entre o retículo endoplasmático e a mitocôndria, onde o primeiro medeia a constrição inicial da forma tubular da mitocôndria (TILOKANI *et al.*, 2018). Num segundo momento, as proteínas adaptadoras fator de fissão mitocondrial (MFF, do inglês *mitochondrial fission factor*) e as proteínas de dinâmica mitocondrial 49 e 51 (MiD49 e 51, do inglês *mitochondrial dynamics proteins*) atuam como receptores do DRP1 (TILOKANI *et al.*, 2018). Após o recrutamento, o DRP1 forma uma estrutura anelar ao redor da mitocôndria, e sua atividade de GTPase fornece a energia necessária para realizar a constrição do sítio de ligação e fissão da mitocôndria alvo em duas (TILOKANI *et al.*, 2018). Dessa forma, é possível retirar da rede mitocôndrias que estejam disfuncionais e que serão recicladas pelo processo de mitofagia (LIESA; SHIRIHAI, 2013).

De forma oposta, a fusão mitocondrial realiza a união de duas mitocôndrias adjacentes e ocorre predominantemente em resposta a depleção de substratos energéticos e estresses brandos, visando aumentar a produção de ATP e reduzir a mitofagia (WAI; LANGER, 2016). Como a mitocôndria possui duas membranas, são necessários mecanismos que catalisem a fusão de ambas (TILOKANI *et al.*, 2018). As GTPases mitofusinas 1 e 2 (MFN1 e MFN2) são as principais responsáveis por realizar a ancoragem e fusão da MME mediante estímulo (TILOKANI *et al.*, 2018). Uma vez que a MME é fundida, outra GTPase, a proteína atrófica óptica 1 (OPA1, do inglês *optic atrophy 1*) medeia a fusão da MMI de uma forma dependente de cardiolipina, um importante e específico lipídio de membrana mitocondrial (TILOKANI *et al.*, 2018). Assim, além de resguardar as mitocôndrias em situações de estresse brando e depleção de nutrientes, a

fusão também possibilita a troca de material genético e outros componentes mitocondriais entre as organelas (Figura 7) (LIESA; SHIRIHAI, 2013; JEŽEK; COOPER; STRICH, 2018).

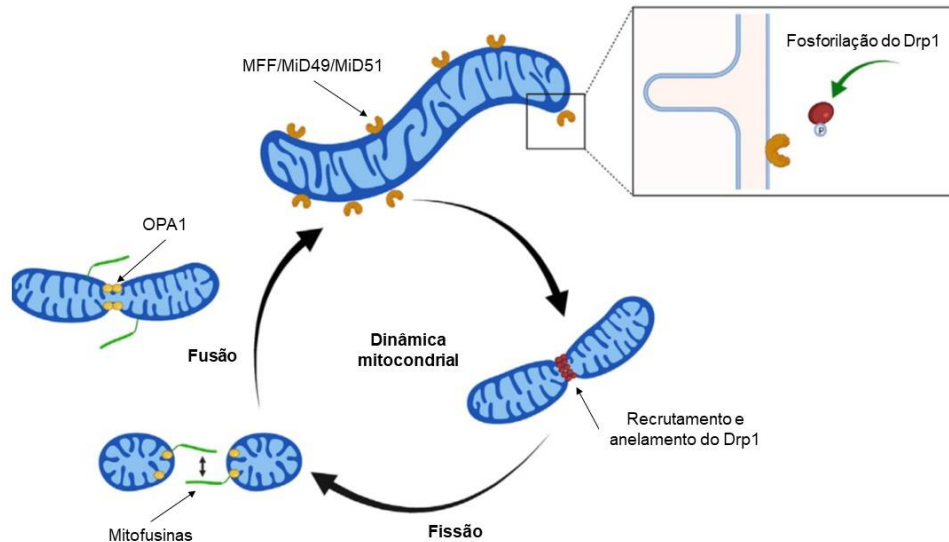


Figura 7: Figura demonstrando a alternância dos processos de fissão e fusão mitocondriais. Figura adaptada de BOULTON e CAINO (2022). DRP1: *dynamamin related protein 1*. MFF: fator de fissão mitocondrial. MiD: proteínas de dinâmica mitocondrial.

Consequentemente, é esperado que defeitos na coordenação da comunicação mitonuclear levem a alterações tanto no metabolismo quanto na dinâmica mitocondrial e afetem profundamente a célula. Diversos modelos experimentais de doenças do SNC vêm corroborando essa evidência, demonstrando que tais patologias estão relacionadas à alterações na sinalização da AMPK, SIRT6 e AKT, que por sua vez estão fortemente associadas à disfunção mitocondrial, redução na produção de ATP, aumento exacerbado das EROs e hiperfragmentação mitocondrial, levando à morte neuronal e a redução da neurogênese adulta (PRAKASH; SHUR; KUMAR, 2013; VISWANATHA; SHYLAJA; MOOLEMATH, 2017; AHSAN et al., 2020; SANTOS-TERRA et al., 2021). Nesse último caso, tais modelos levaram a melhor elucidação do papel

que a mitocôndria e a sinalização redox desempenham durante a neurogênese adulta e, recentemente, diversos trabalhos vêm demonstrando que ambas organelas e EROs possuem papel central nas adaptações metabólicas que medeiam o processo de diferenciação neuronal também durante a neurogênese fetal, e que alterações na homeostase mitocondrial e redox podem ter um efeito devastador durante o neurodesenvolvimento intrauterino (KHACHO *et al.*, 2017).

A sinalização e metabolismo mitocondriais e seu papel durante a neurogênese fetal

O neurodesenvolvimento, como o nome sugere, é o processo de formação do SNC que ocorre durante o desenvolvimento fetal e se inicia com a migração das células do ectoderma e formação do tubo neural por volta dos dias gestacionais 10 e 11 em ratos (RICE; BARONE, 2000; SEMPLE, 2013). Apesar de ser um termo que se refere ao desenvolvimento do SNC como um todo, é importante ressaltar que o neurodesenvolvimento compreende uma gama de diferentes processos que envolvem a proliferação, migração, angiogênese, refinamento sináptico e diversos outros (REEMST *et al.*, 2016). Além disso, cada tipo celular que compõem o tecido nervoso possui um momento durante o processo de neurodesenvolvimento onde ocorre o seu pico de proliferação (Figura 8) (REEMST *et al.*, 2016). Dessa forma, uma aplicação translacional importante do conhecimento do período em que ocorrerá o pico de maior intensidade dos processos que ocorrem durante o neurodesenvolvimento é permitir a comparação do desenvolvimento cerebral entre espécies, como no caso, entre ratos e humanos, descrito na tabela 1 (SEMPLE, 2013).

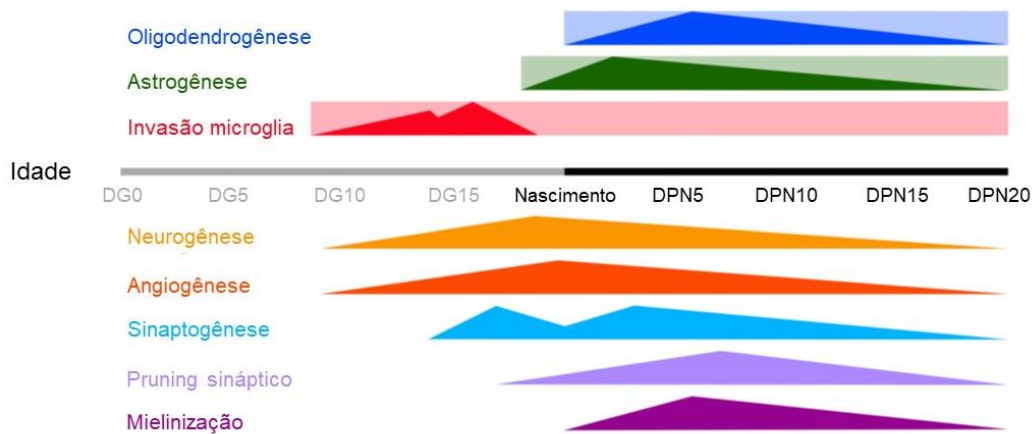


Figura 8: Esquema representando o pico de proliferação celular de diferentes células do SNC durante o período gestacional e pós-natal em roedores. DG: dia gestacional; DPN: dia pós-natal. Imagem adaptada de REEMST *et al.* (2016).

No entanto, como cada região encefálica possui um padrão específico em relação ao tipo e quantidade de células neurais, o seu pico de desenvolvimento também pode ser estimado de forma mais específica durante o desenvolvimento fetal e pós-natal (RICE; BARONE, 2000). Por exemplo, no caso das estruturas encefálicas de interesse deste projeto, como o cerebelo, corpo estriado, hipocampo e córtex pré-frontal, descritos na tabela 2 (RICE; BARONE, 2000). Dessa forma, é evidente que cada região do encéfalo possui uma janela crítica de desenvolvimento diferente das demais, portanto, uma determinada intervenção em um momento da gestação pode afetar de forma mais intensa uma das regiões quando compara com as outras justamente por ter um maior potencial de interferir nos diversos processos sinalizadores e metabólicos que governam a intensa proliferação e diferenciação das células do tecido nervoso durante o neurodesenvolvimento (RICE; BARONE, 2000; FITZGERALD; HOR; DRAKE, 2020).

Tabela 1: Comparação do desenvolvimento do SNC de humanos e roedores utilizando marcos do neurodesenvolvimento. Tabela adaptada de SEMPLE, 2013.

Idade em Humano	Idade em Roedor	Marco no desenvolvimento	Referência
SG 23 a 32	DPN 1 a 3	Estabelecimento da barreira hematoencefálica.	(DANEMAN et al., 2010)).
SG 36 a 40	DPN 7 a 10	Pico da gliogênese; Aumento da densidade axonal e dendrítica.	(KRIEGSTEIN; ALVAREZ-BUYLLA, 2009)).
Dois a 3 anos de idade	DPN 20 a 21	Encéfalo atinge cerca de 90% do peso adulto.	(GIEDD et al., 1999; LENROOT et al., 2007)

DPN: dia pós-natal; SG: semana gestacional.

Dentre os processos que ocorrem durante o neurodesenvolvimento, a neurogênese é o que dá origem aos novos neurônios que irão migrar estabelecer a citoarquitetura do SNC (BJORNSSON et al., 2015). Inicialmente a neurogênese era considerada um processo restrito ao desenvolvimento fetal e perinatal, no entanto, nas últimas décadas novas evidências demonstraram que ela ocorre no cérebro adulto, mesmo que restrita a zonas específicas do SNC, como a zona subventricular dos ventrículos laterais e a zona subgranular do giro denteado do hipocampo (ALMEIDA; VIEIRA, 2017). A base do processo de neurogênese são as células-tronco neurais (NSCs, do inglês *neural stem cells*) que permanecerem quiescentes até o momento em que são ativadas por sinais extra e intracelulares (VISCO et al., 2021a). Uma vez ativadas, as NSC entram no ciclo celular, onde podem então realizar uma divisão simétrica, dando origem

a duas NSC ou duas células progenitoras neurais (NPCs, do inglês *neural progenitor cells*), ou então realizar divisão assimétrica, gerando uma NSC e uma NPC (LAZUTKIN; PODGORNY; ENIKOLOPOV, 2019).

Tabela 2: Comparação do desenvolvimento de regiões específicas do encéfalo entre roedor (rato) e humano. Tabela adaptada de BAYER *et al.* (1993), RICE e BARONE (2000).

Região encefálica	Roedor (rato)	Humano
Córtex	DG 15 – nascimento	SG 7 – 19
Cerebelo	DG 11 – DPN 20	SG 4 – nascimento
Hipocampo	DG 14 – DPN 20	SG 7 – nascimento
Corpo estriado	DG 15 – nascimento	SG 7 – 19

DG: dia gestacional; SG: semana gestacional.

A ativação e diferenciação das NSC em células nervosas é um processo extremamente complexo que envolve a interação de diversas vias de sinalização, e recentemente, evidências vêm demonstrando que uma reorganização metabólica também é necessária para a completa diferenciação em neurônios (IWATA; VANDERHAEGHEN, 2021; COELHO *et al.*, 2022). De forma geral, ambas NSCs fetais e adultas são altamente dependentes da via glicolítica como principal fonte de ATP, principalmente em seu estado quiescente (MARYANOVICH *et al.*, 2015; KHACHO; SLACK, 2017). Apesar da maior dependência em relação a glicólise, outros trabalhos demonstraram que as mitocôndrias das NSCs quiescentes estão ativas, mesmo que relativamente reprimidas em comparação com neurônios completamente diferenciados (TAKUBO *et al.*, 2013; MARYANOVICH *et al.*, 2015; KHACHO; SLACK, 2017). Além disso, as NSCs quiescentes fetais apresentam uma predominância de mitocôndrias mais fundidas, formando longas redes (KHACHO *et al.*, 2016).

Quando as NSC recebem sinais extracelulares que estimulam a diferenciação, é necessário que ocorra uma reprogramação metabólica que não

irá apenas dar suporte ao processo de neurogênese, mas irá agir também como indutora e reguladora do mesmo (KHACHO; SLACK, 2018). Durante a divisão celular é necessário que ocorra uma fragmentação mitocondrial, que irá permitir o tráfego das organelas para as células filhas (IWATA; VANDERHAEGHEN, 2021). Após a mitose, a célula filha NPC permanece com uma predominância de mitocôndrias fragmentadas, porém, também ocorre uma mudança metabólica gradual, onde as NPCs começam a possuir uma maior ativação e dependência da fosforilação oxidativa (OXPHOS, do inglês *oxidative phosphorylation*) como principal fonte de ATP (KHACHO et al., 2016; ZHENG et al., 2016; IWATA; VANDERHAEGHEN, 2021). Conseqüentemente, o maior fluxo de elétrons pelo STEM também irá induzir maior produção de EROs, levando a aumento da sinalização mitonuclear e indução da diferenciação em neurônios (KHACHO et al., 2016; ZHENG et al., 2016; IWATA; VANDERHAEGHEN, 2021). Dessa forma, uma vez que a NPC complete sua diferenciação em um neurônio maduro, as mitocôndrias retornam a um estado mais fundido, onde também é observada uma completa dependência da OXPHOS como fonte de ATP (Figura 9) (KHACHO et al., 2016; ZHENG et al., 2016; IWATA; VANDERHAEGHEN, 2021).

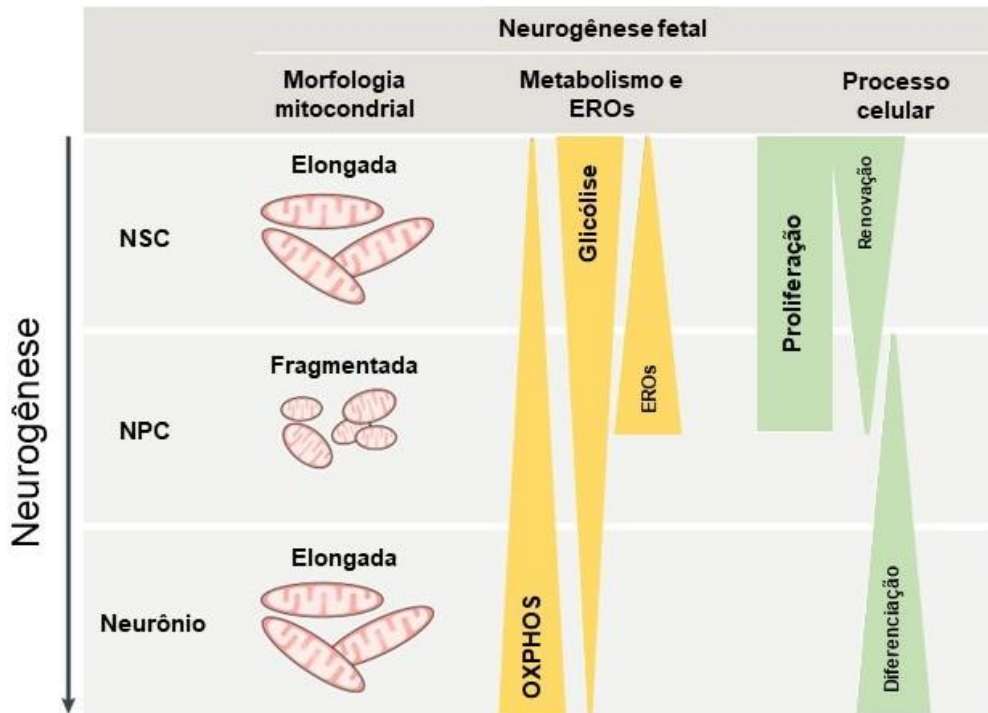


Figura 9: Figura esquematizando as transições metabólicas, redox e na morfologia mitocondrial que ocorrem durante o processo de diferenciação das NSCs em neurônios no decorrer do neurodesenvolvimento fetal. Imagem adaptada de KHACHO, HARRIS e SLACK (2019). EROs: espécies reativas de oxigênio. NPC: célula progenitora neural. NSC: célula tronco neural. OXPHOS: fosforilação oxidativa.

Apesar de demonstrarem a forte relação que existe entre o metabolismo e dinâmica mitocondrial com a neurogênese, as evidências discutidas acima ainda não elucidam completamente quais mecanismos ligam uma OXPHOS e metabolismo mais ativos com a regulação da transcrição gênica e a diferenciação das NSC (IWATA; VANDERHAEGHEN, 2021). Trabalhos mais recentes vêm propondo três principais mecanismos que podem conectar o metabolismo mitocondrial e a neurogênese fetal. A maior atividade mitocondrial requerida pelo processo de diferenciação leva (1) ao aumento do fluxo de metabólitos pela via glicolítica, β -oxidação e CK, os quais possuem metabólitos ou enzimas sinalizadoras capazes de induzir a diferenciação, como é o caso do α -cetoglutarato, da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase e da carnitina-

palmitoil-transferase 1 (KNOBLOCH et al., 2017; YANG et al., 2019; IWATA; VANDERHAEGHEN, 2021). Além disso, o metabolismo mitocondrial mais ativo também induz (2) o aumento da razão NAD^+/NADH , e (3) dos níveis de EROs, que como discutido anteriormente, levam à ativação de diversas vias de sinalização celular que também estão envolvidas com a neurogênese fetal, como as mediadas por SIRT1 e NRF2 (MA et al., 2014; FUSCO et al., 2016; KHACHO et al., 2016; IWATA; VANDERHAEGHEN, 2020; S NARASIMHAN et al., 2020).

Como discutido até o momento, diversas evidências demonstram que os polifenóis e a naringina podem modular o estado redox e a fisiologia mitocondrial, e que estes possuem papel central em regular a neurogênese adulta e fetal. Sendo assim, nossa hipótese principal é de que quando suplementada na dieta materna durante a gestação, a naringina pode ser capaz de causar alterações na sinalização redox e mitocondrial no encéfalo da prole das ratas Wistar suplementadas, e que tais alterações possuem o potencial de alterar a neurogênese fetal, o que pode induzir modificações no neurodesenvolvimento e comportamentais durante a vida pós-natal.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi investigar se a suplementação materna com naringina durante a terceira semana de prenhez seria capaz de induzir adaptações no perfil metabólico plasmático, na sinalização redox e na funcionalidade e sinalização mitocondrial no cerebelo, hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado da prole em ambos os sexos durante o desenvolvimento pós-natal.

Objetivos Específicos

Avaliar nos filhotes machos e fêmeas nascidos de ratas suplementadas com naringina e de ratas controle os seguintes parâmetros:

- Realizar a sexagem, contagem e pesagem dos filhotes machos e fêmeas nascidos por ninhada e avaliar o desenvolvimento das características físicas e neuromotoras durante as duas primeiras semanas de vida.

Avaliar no plasma da prole e ratas mães:

- Níveis de glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e ureia nos dias pós-natais 1, 7 e 21.

Avaliar no cerebelo, hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado da prole nos dias pós-natais 1, 7 e 21:

- o conteúdo total de oxidantes e o nível de $mO_2^{\cdot-}$;
- o conteúdo de GSH;
- atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx e GLO1;
- a massa e o $\Delta\Psi_m$ mitocondriais; e

- o imunoconteúdo de p-AMPK, AMPK, p-AKT, AKT, SIRT3, SIRT1, DRP1, MFN1 e mtTFA.

RESULTADOS

Capítulo I

Título: Naringin Supplementation during Pregnancy Induces Sex and Region Specific Alterations in the Offspring's Brain Redox Status.

Formato de publicação: Artigo científico.

Periódico: International Journal of Environmental Research and Public Health.

Status: Publicado.

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18094805>



Article

Naringin Supplementation during Pregnancy Induces Sex and Region-Specific Alterations in the Offspring's Brain Redox Status

Bernardo Gindri dos Santos ^{1,*} , Caroline Peres Klein ¹, Mariana Scortegagna Crestani ² ,
Rafael Moura Maurmann ², Régis Mateus Hözer ¹, Karoline dos Santos Rodrigues ¹, Pauline Maciel August ¹
and Cristiane Matté ^{1,2,3}

- ¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 90035-000, Brazil; carolpkl@gmail.com (C.P.K.); regishozer@gmail.com (R.M.H.); rodrigues206@outlook.com (K.d.S.R.); maciel.pauline@gmail.com (P.M.A.); matte@ufrgs.br (C.M.)
 - ² Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 90035-000, Brazil; marianascrestani@gmail.com (M.S.C.); rafael.maurmann@acad.pucrs.br (R.M.M.)
 - ³ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 90050-170, Brazil
- * Correspondence: bernardobmd@gmail.com



Citation: Gindri dos Santos, B.; Peres Klein, C.; Scortegagna Crestani, M.; Moura Maurmann, R.; Mateus Hözer, R.; Dos Santos Rodrigues, K.; Maciel August, P.; Matté, C. Naringin Supplementation during Pregnancy Induces Sex and Region-Specific Alterations in the Offspring's Brain Redox Status. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 4805. <https://doi.org/10.3390/ijerph18094805>

Academic Editor: Paul B. Tchounwou

Received: 22 February 2021

Accepted: 27 April 2021

Published: 30 April 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Research has shown the beneficial effects of naringin supplementation to adult rodents, which can ameliorate oxidative stress in disease models. However, evidence has demonstrated that polyphenol supplementation induced detrimental effects when consumed during sensitive periods of development, such as pregnancy. Therefore, we investigated the effect of maternal naringin supplementation during pregnancy on the offspring's cerebral redox status. Pregnant Wistar rats were divided into control and naringin groups and supplemented from gestational day 15 to gestational day 21. On postnatal days 1, 7, and 21, offspring were euthanized, and the prefrontal cortex, hippocampus, striatum, and cerebellum dissected. On postnatal day 1, maternal naringin supplementation positively modulated the pups' brain redox status. On postnatal day 7, a pro-oxidative milieu was observed in the offspring's striatum and cerebellum in a sex-dependent manner, even though the prefrontal cortex and hippocampus were not negatively affected. Besides, the alterations observed on postnatal day 7 did not persist up to weaning. Our findings demonstrated that the effect induced by naringin supplementation in the brain redox status differed according to the period of development in which naringin was consumed since the beneficial effects usually found in the adult rodents became detrimental when the supplementation was applied during pregnancy.

Keywords: flavonoids; pregnancy; DOHaD; brain; redox status; antioxidant

1. Introduction

Naringin, which is a glycosylated flavonoid, is commonly found in Chinese herbal medicines, citrus fruits, and derivative beverages [1]. During the past years, it has been demonstrated that naringin can promote neuroprotection in experimental models of cognitive dysfunction, such as Parkinson's disease, epilepsy, and Alzheimer's disease mainly by reducing oxidative stress and improving neuronal survival [2–5]. Additionally, though data from clinical and observational research is still limited, they also show that citrus fruit extract, grapefruit, and even naringin supplements can reduce total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL), and improve blood pressure [6–9]. Therefore, this whole body of evidence suggests that flavonoid intake, including naringin, can induce beneficial effects and promote health in the general population when consumed in the diet or by flavonoid-based supplements.

Accordingly, herbal supplements, which contain flavonoids in their composition, are commonly used and perceived as safe by the general population mainly because they can be purchased without medical prescription and are derived from natural products, such as fruits, teas, or herbs [10–13]. Other reports have also demonstrated that the consumption of polyphenol-rich supplements in specific population groups, such as pregnant women, ranges from 28.9% to 57.8% in different countries, mostly stimulated by friends, family, or their own initiative [14–17]. Taken together, this data suggests a misconception by the general population regarding polyphenol-rich supplements safety, which is a situation particularly delicate because of two reasons: the polyphenol doses reached by supplementation are many times higher than what is normally found in the diet, and the second is the lack of data from studies evaluating the safety of polyphenol supplementation during pregnancy for the mother and the developing fetus [18,19].

In this context, the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) field of study aims to understand how interventions during critical periods of development, such as pregnancy, might induce alterations in the progeny's development [20]. In recent years, an increasing body of evidence from animal studies has been demonstrating that maternal diet interventions during pregnancy, such as polyphenol supplementation, can induce postnatal alterations in the offspring's blood biochemical parameters, antioxidant status, inflammatory status, and cholesterol transport in different tissues [21–25]. Additionally, epigallocatechin gallate, a flavonoid commonly found in green tea, was able to inhibit migration and adhesion of neural progenitor cells *in vitro*, thereby suggesting that polyphenols might also interfere during neurodevelopment [26].

Moreover, the impact of maternal high polyphenol intake was also reported in human studies, though they are still very scarce. ZIELINSKY et al. (2010) found an association between high maternal intake of polyphenol-rich foods during late pregnancy with alterations in fetal *ductus arteriosus* flow dynamics, which can potentially impair cardiovascular health during postnatal development [27]. The authors also demonstrated that the inflammatory milieu and the increased nitric oxide content, both necessary for the ductus development during late pregnancy, were counteracted by the high maternal polyphenol intake, which altered the correct development and closure of the *ductus arteriosus* [28,29]. Besides demonstrating that the maternal high polyphenol intake during pregnancy could modify the redox status in the fetal heart, the authors also showed that the effects induced by the high polyphenol consumption in the ductus closure dynamics were observed only if the consumption occurred during the third week of pregnancy. These data suggest that dietary interventions during such periods of development can induce long-lasting effects during the progeny's postnatal life.

Therefore, considering the evidence suggesting that: (1) maternal high polyphenol intake can modify the redox status in fetal tissues, (2) naringin is a redox-active molecule able to modulate brain redox status, and (3) interventions during an organ's critical window of development can induce persistent alterations, we hypothesized that maternal naringin supplementation during the third week of pregnancy can modify the offspring's brain redox homeostasis during postnatal development. Here, the prefrontal cortex, hippocampus, striatum, and cerebellum were evaluated at three different postnatal ages up to postnatal day 21 in both sexes. By these means, we also aimed to assess if the alterations induced by prenatal naringin exposure could be sex-dependent and if they would persist along with postnatal development.

2. Materials and Methods

2.1. Ethical Standards

The experimental design and procedures were approved by the local Ethics Commission on Animal Use (CEUA/UFRGS), under protocol number 35332. All experiments follow the ARRIVE guidelines and were performed in accordance with the National Animal Rights Regulations (Law 11.794/2008), the American National Institute of Health Guide

for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH publication No. 80-23, revised 1996), and the Directive 2010/63/EU.

2.2. Animals

Pregnant Wistar rats (90 days-old) were obtained from the animal facility at Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil. The animal facility was under controlled light (12:12 h light/dark cycle), temperature (22 ± 1 °C), and humidity conditions (50–60%). Animals had free access to a 20% (*w/w*) protein commercial chow and water ad libitum.

2.3. Reagents

Purified naringin was obtained from Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). We chose to use purified naringin to evaluate its isolated effect. This flavonoid is commonly found in citrus fruits that are widely consumed in the human diet, such as lemon, oranges, grapefruit, and its derivatives [30,31]. Moreover, purified naringin supplements are currently available online for purchase.

2.4. Experimental Protocol

The female Wistar rats were mated in a proportion of 1 male to 2 females per cage, and the pregnancy diagnosis was confirmed by the presence of sperm in the vaginal smear and it was considered as the gestational day zero [32]. Pregnant rats were randomly divided into two experimental groups treated by oral gavage: control (equivalent volume of distilled water) and naringin groups (100 mg/kg/day). This dose was selected based on studies that have demonstrated modulation of the redox status by naringin in different brain regions in adult rodents [33,34].

The naringin supplementation occurred during the third week of pregnancy, between gestational days 15 and 21. Such period was chosen based on reports demonstrating that the intrauterine development of the brain regions analyzed here predominantly occurs during the third week of gestation; therefore, the maternal naringin supplementation was administered during such a critical window of development [35–37]. The delivery date was considered as postnatal day 0. After delivery, the pups were randomly selected and culled to maintain litters of eight pups per dam with the same proportion of males and females. From delivery up to weaning each dam was housed with its own litter.

On postnatal days 1, 7, and 21 the male and female pups were randomly picked from each control and naringin litter and euthanized by decapitation without anesthesia to avoid tissue chemical contamination. The prefrontal cortex, hippocampus, striatum, and cerebellum were dissected and stored at -80 °C. Here we considered the litter as the experimental unit; therefore, all the analyses were undertaken with samples from pups obtained from different litters to avoid the litter effect [38]. For each biochemical analysis, we have used between 6 and 8 pups as the experimental “*n*”.

2.5. Sample Processing

The brain regions were homogenized (1:10 *w/v*) in 20 mM sodium phosphate buffer (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), pH 7.4, containing 140 mM KCl (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), and centrifuged at $750 \times g$ for 10 min at 4 °C. The pellet was discarded, and the supernatant was used for the biochemical analyses.

2.6. Biochemical Analyses

2.6.1. Total Oxidants Level

2',7'-dichlorofluorescein (DCFH) () oxidation was evaluated fluorometrically in a 96-well plate. Briefly, 50 μ L of the diluted sample homogenate was incubated with 200 μ L H₂DCF-DA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) at 37 °C for 30 min in a dark room. DCFH converted from H₂DCF-DA, was oxidized further by cellular oxidants, mainly H₂O₂, producing DCF, which is a fluorescent compound. DCF fluorescence was detected

at 488 nm excitation and 525 nm emission. A DCF standard curve from 0.25 to 10 mM was also used in parallel. Data are expressed as nmol/mg protein [39].

2.6.2. Antioxidant Enzymes Assays

The antioxidant enzyme activities were evaluated as described below. Moreover, the SOD/GPx ratio was mathematically calculated by dividing the SOD activity by the GPx activity of the same sample in the following formula: SOD/GPx ratio = (SOD activity/GPx activity) \times 100 [40].

2.6.3. Superoxide Dismutase Activity

Superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) activity was evaluated by quantifying the inhibition of the autoxidation of epinephrine by SOD at 480 nm. The reaction medium consisted of 50 mM glycine buffer (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) pH 10.2 containing 0.01 mM of bovine catalase (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), and 0.05 mM of epinephrine (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) as the reaction starter. Total SOD activity is expressed as the amount of enzyme that inhibits the oxidation of epinephrine by 50%, which is equal to one unit. The data were calculated as units/mg protein [41].

2.6.4. Glutathione Peroxidase Activity

Glutathione peroxidase (GPx, EC 1.11.1.9) activity was evaluated by the decrease of NADPH (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) concentration at 340 nm. The reaction medium contained 100 mM potassium phosphate buffer (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), pH 7.7, 1 mM EDTA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 2 mM reduced glutathione (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 0.15 U/mL glutathione reductase (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 0.4 mM azide (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 0.1 mM NADPH, and 0.5 mM tert-butyl hydroperoxide (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) as enzyme substrate. GPx unit is defined as 1 μ mol of NADPH consumed per minute and the specific activity as units/mg protein [42].

2.6.5. Catalase Activity

Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) activity was evaluated by measuring the reduction of hydrogen peroxide at 240 nm in a reaction medium containing 20 mM H₂O₂ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 0.1% Triton X-100 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), and 10 mM potassium phosphate buffer, pH 7.0. One CAT unit is defined as 1 μ mol of H₂O₂ consumed per minute and the specific activity as units/mg protein [43].

2.6.6. Glyoxalase 1 Activity

Glyoxalase 1 (GLO1, EC 4.4.1.5) activity was measured by following the increase in the S-D-lactoylglutathione at 240 nm. The reaction medium consisted of 60 mM sodium phosphate buffer, pH 6.6, with reduced glutathione 0.01 M, and methylglyoxal 0.01 M (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). A GLO1 unit is defined as the amount of enzyme needed to catalyze the formation of 1 μ mol of S-D-lactoylglutathione per minute, and the specific activity is represented as units/mg protein [44].

2.6.7. Total Reduced Glutathione Content

First, high molecular weight proteins in the tissue homogenate were precipitated with meta-phosphoric acid (1:1, *v/v*, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), and centrifuged at 5000 \times *g* for 10 min at 25 °C. Reduced glutathione (GSH) present in the supernatant reacted with the fluorophore o-phthalaldehyde (7.5 mM) prepared in 100 mM sodium phosphate buffer, pH 8.0, with 5 mM EDTA. The fluorescence was read at excitation and emission wavelengths of 350 nm and 420 nm, respectively, using the SpectraMax Gemini XS Fluorescence microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). A standard GSH curve ranging from 0.001 to 1 mM was prepared and a blank sample was performed in parallel. Data were expressed as nmol of GSH/mg protein [45].

2.6.8. Protein Determination

The total protein content of the samples was measured according to LOWRY et al. (1951) modified by PETERSON et al. (1977) and adapted to 96 well plates using bovine serum albumin as the standard [46,47]. Briefly, the samples were diluted in ultra-pure water in a proportion of 1/20 and then incubated with Lowry solution for 10 min under constant agitation of 30 g and temperature of 25 °C. Following the 10 min incubation, the 0.08 M folin solution (Dinâmica, Indaiatuba, São Paulo, Brazil). was added and the samples incubated for 30 min under constant agitation of 30 g and temperature of 25 °C in a dark room. The samples were read at 750 nm wavelength and the protein content was expressed as mg/mL.

2.7. Statistical Analysis

The analysis was performed by the IBM SPSS 22.0 program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The data were tested for normality and the outliers exceeding ± 2 standard deviations were excluded when necessary. All data were analyzed by the two-way analysis of variance (ANOVA) with maternal naringin supplementation (*) and the offspring's sex (#) as the two main independent factors. The ANOVA tests were followed by Sidak's multiple comparison test when interactions were statistically significant. All data are expressed as mean \pm standard error of the mean (S.E.M.) and considered statistically significant when $p < 0.05$. All the descriptive statistical results are available within the Supplementary Materials in Tables S1–S4.

3. Results

3.1. Naringin Supplementation during the Third Week of Pregnancy Positively Modulate the Males' Prefrontal Cortex Redox Status on Postnatal Day 7

On postnatal day 1, maternal naringin supplementation during pregnancy induced alterations in the offspring's prefrontal cortex redox status. As demonstrated in Figure 1d, both male and female pups born to naringin-supplemented dams showed increased GPx activity (supplementation effect, $p = 0.024$), even though no other supplementation-associated alterations were observed. Interestingly, our results also demonstrated sex-related differences suggesting that males had increased oxidative status than females since they showed higher total oxidants level (sex effect, $p < 0.001$), GPx (sex effect, $p = 0.003$), and GLO1 (sex effect, $p = 0.048$) activities (Figure 1a,d,f, respectively). Meanwhile, females had a higher SOD/GPx ratio (sex effect, $p = 0.029$) in the prefrontal cortex on postnatal day 1 (Figure 5a).

Moreover, when analyzing the offspring's prefrontal cortex redox status on postnatal day 7, there were observed sex-specific alterations induced by maternal naringin supplementation. At this age, both male and female offspring born to supplemented dams had increased GSH content (supplementation effect, $p = 0.012$) in the prefrontal cortex (Figure 1b); however, an interaction between sex and supplementation was observed in the SOD (interaction, $p = 0.002$) and GPx (interaction, $p = 0.008$) activities, demonstrating that male pups born to naringin supplemented rats had increased activities compared to males born to control dams (Figure 1c,d, respectively). Moreover, the naringin males showed higher SOD (interaction, $p = 0.002$) and GPx (interaction, $p = 0.008$) activities when compared to the naringin females. The above supplementation-related alterations were accompanied by sex differences in the prefrontal cortex's redox status in which females had higher SOD (interaction, $p = 0.002$) and GLO1 (interaction, $p = 0.026$) activities (Figure 1c,f, respectively), and SOD/GPx ratio (sex effect, $p = 0.038$) (Figure 5a) when compared to males, while males displayed increased oxidants content (sex effect, $p < 0.001$) CAT activity (sex effect, $p = 0.038$) when compared to females (Figure 1e).

Prefrontal cortex

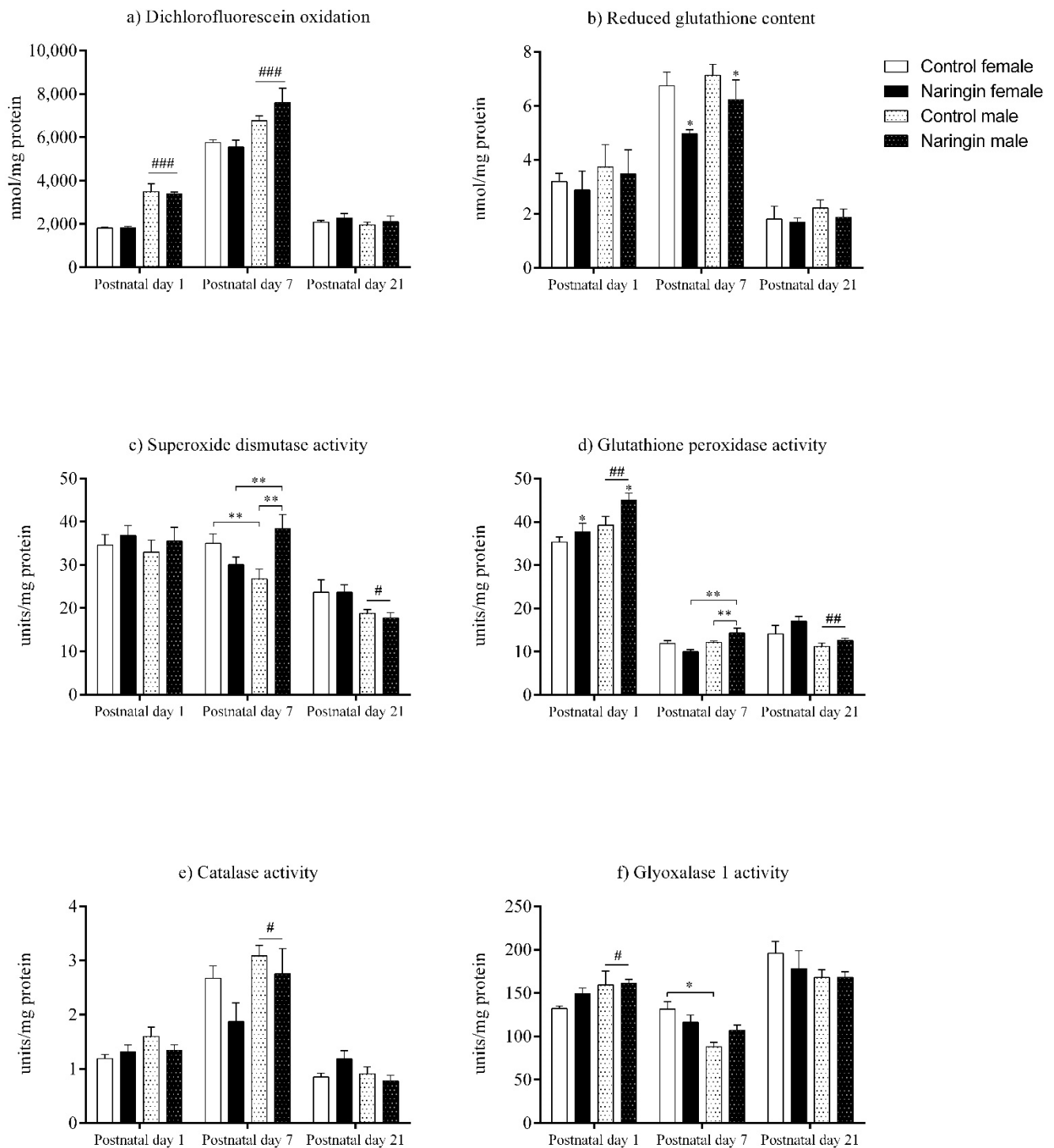


Figure 1. Effects of maternal naringin supplementation during the third week of gestation on the (a) dichlorofluorescein oxidation, (b) reduced glutathione content, (c) superoxide dismutase activity, (d) glutathione-peroxidase activity, (e) catalase activity, and (f) glyoxalase 1 activity in the offspring’s prefrontal cortex on postnatal days 1, 7, and 21. Results are expressed as mean ± S.E.M. Control female $n = 8$, naringin female $n = 8$, control male $n = 8$, naringin male $n = 6$. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ (two-way ANOVA). Asterisks represent the main supplementation effect, and the hashes on bars represent the main sex effect. The asterisks on bars (single bracket) represent the significant comparisons by Sidak’s post-hoc test when interactions occurred.

Interestingly, on postnatal day 21, the total number of supplementation-associated alterations reduced, and no interaction between sex and supplementation was observed. With exception of the SOD/GPx ratio (supplementation effect, $p = 0.022$) (Figure 5a), which was increased in the prefrontal cortex of pups born to naringin-supplemented dams, no other supplementation-related alteration was observed in the redox parameters evaluated in our study (Figure 1). In addition, sex-related differences were found in the SOD (sex effect, $p = 0.011$) and GPx (sex effect, $p = 0.009$) activities, which were higher in female than in male pups in the prefrontal cortex on postnatal day 21 (Figure 1c,d, respectively).

3.2. Maternal Naringin Supplementation during Pregnancy Triggers Sex-Independent Redox Alterations in the Offspring's Hippocampus

In the hippocampus, maternal naringin supplementation during pregnancy induced alterations in both male and female pups on postnatal day 1. Here, the offspring born to supplemented dams showed reduced GSH content (supplementation effect, $p = 0.001$), which was accompanied by increased GPx activity (supplementation effect, $p = 0.003$), in the hippocampus (Figure 2b,d, respectively), though no other supplementation-associated alteration was observed in the redox status at this postnatal age (Figure 2). In addition, sex-related differences in which males showed higher oxidants (sex effect, $p = 0.006$), GSH content (sex effect, $p = 0.002$), SOD (sex effect, $p = 0.014$), and GPx (sex effect, $p < 0.001$) activities compared to females were also observed in the offspring's hippocampus on postnatal day 1 (Figure 2a–d, respectively).

Similarly, the alterations elicited by maternal naringin supplementation in the hippocampus' redox status on postnatal day 1 also persisted on postnatal day 7, as shown in Figure 2. The GSH content (supplementation effect, $p = 0.002$) remained reduced while the GPx activity (supplementation effect, $p = 0.026$) was still increased on postnatal day 7 (Figure 2b,d, respectively), in addition to other supplementation-related effects that were observed in the GLO1 activity (supplementation effect, $p < 0.001$), which increased (m), and in the SOD/GPx ratio (supplementation effect, $p = 0.013$), which reduced in the offspring born to supplemented rats (Figure 5b). The above alterations were accompanied by sex-related differences in the total oxidants (sex effect, $p < 0.001$) and GPx activity (sex effect, $p < 0.001$), that were higher in females (Figure 2a,d, respectively), and in the SOD/Gpx ratio (sex effect, $p = 0.005$), which was higher in male pups (Figure 5b).

Although on postnatal day 7 the pups' hippocampal redox status was highly affected by maternal naringin supplementation, most of these alterations did not persist up to postnatal day 21. While the previous alterations found in the GSH content, GPx activity (Figure 2b,d, respectively) and in the SOD/GPx ratio (Figure 5b) did not show any significant difference on postnatal day 21, the GLO1 activity (supplementation effect, $p = 0.039$) reduced in the offspring born to naringin-supplemented dams, which contrasts from the increased GLO1 activity previously detected on postnatal day 7 (Figure 2f). Besides, sex-related differences were observed on postnatal day 21 in which males had higher oxidants level (sex effect, $p = 0.045$), GSH content (sex effect, $p = 0.006$), and CAT activity (sex effect, $p = 0.037$) in the hippocampus when compared to the female pups (Figure 2a,b,e, respectively).

Hippocampus

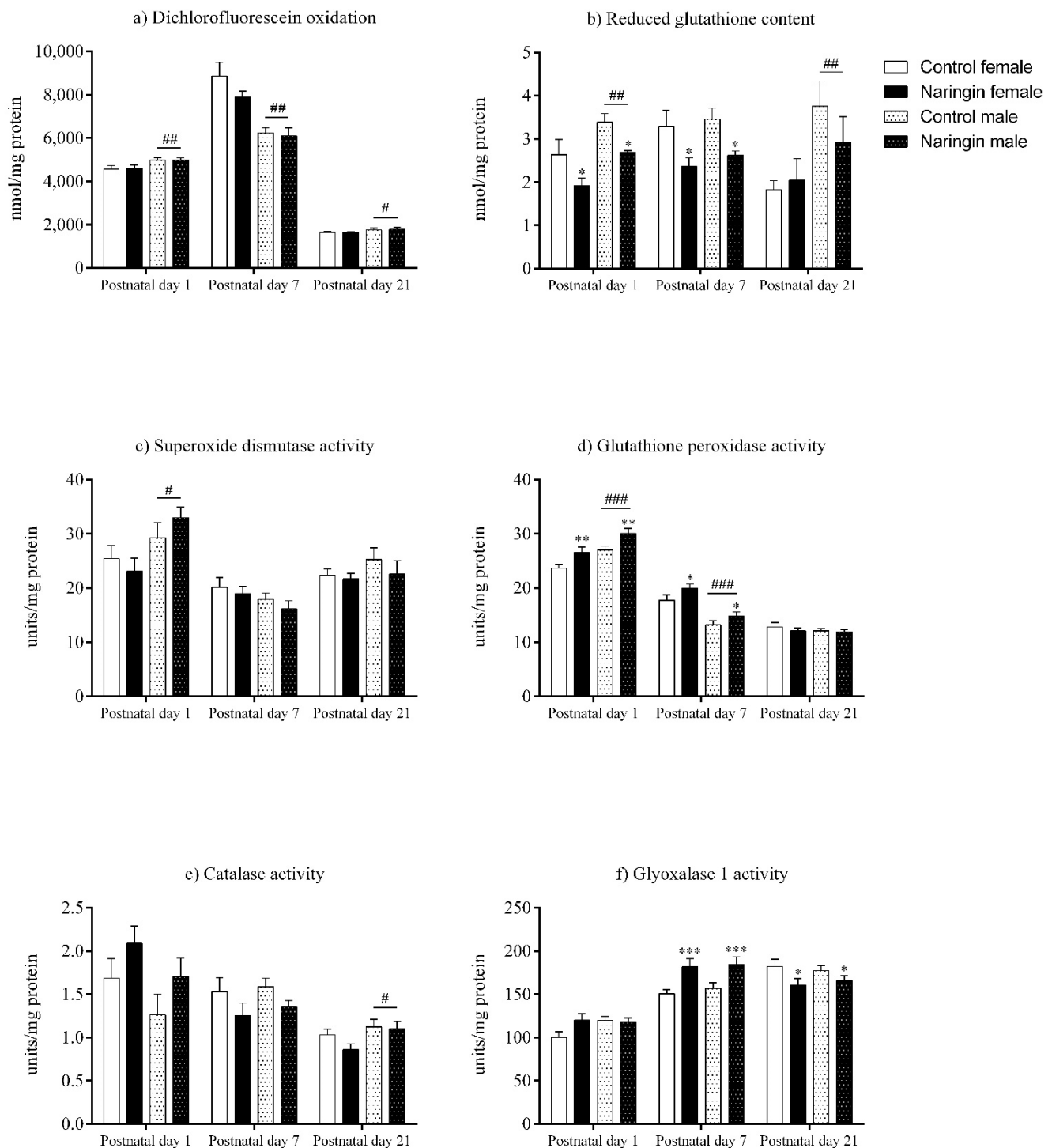


Figure 2. Effects of maternal naringin supplementation during the third week of gestation on the (a) dichlorofluorescein oxidation, (b) reduced glutathione content, (c) superoxide dismutase activity, (d) glutathione-peroxidase activity, (e) catalase activity, and (f) glyoxalase 1 activity in the offspring’s hippocampus on postnatal days 1, 7, and 21. Results are expressed as mean ± S.E.M. Control female $n = 8$, naringin female $n = 8$, control male $n = 8$, naringin male $n = 6$. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ (two-way ANOVA). Asterisks represent a main supplementation effect, and the hashes on bars represent a main sex effect. The asterisks on bars (single bracket) represent the significant comparisons by Sidak’s post-hoc test when interactions occurred.

3.3. Naringin Supplementation during Pregnancy Induces a Pro-Oxidative Shift in the Male Offspring's Striatum on Postnatal Day 7

On postnatal day 1, the offspring born to naringin supplemented rats showed reduced total oxidants content (supplementation effect, $p < 0.001$) in the striatum (Figure 3a), even though no other supplementation-related alterations in the redox status were found at this postnatal age (Figure 3). Such alteration was also accompanied by a sex-associated difference in which females demonstrated higher oxidants content compared to males (sex effect, $p = 0.007$) also on postnatal day 1 (Figure 3a).

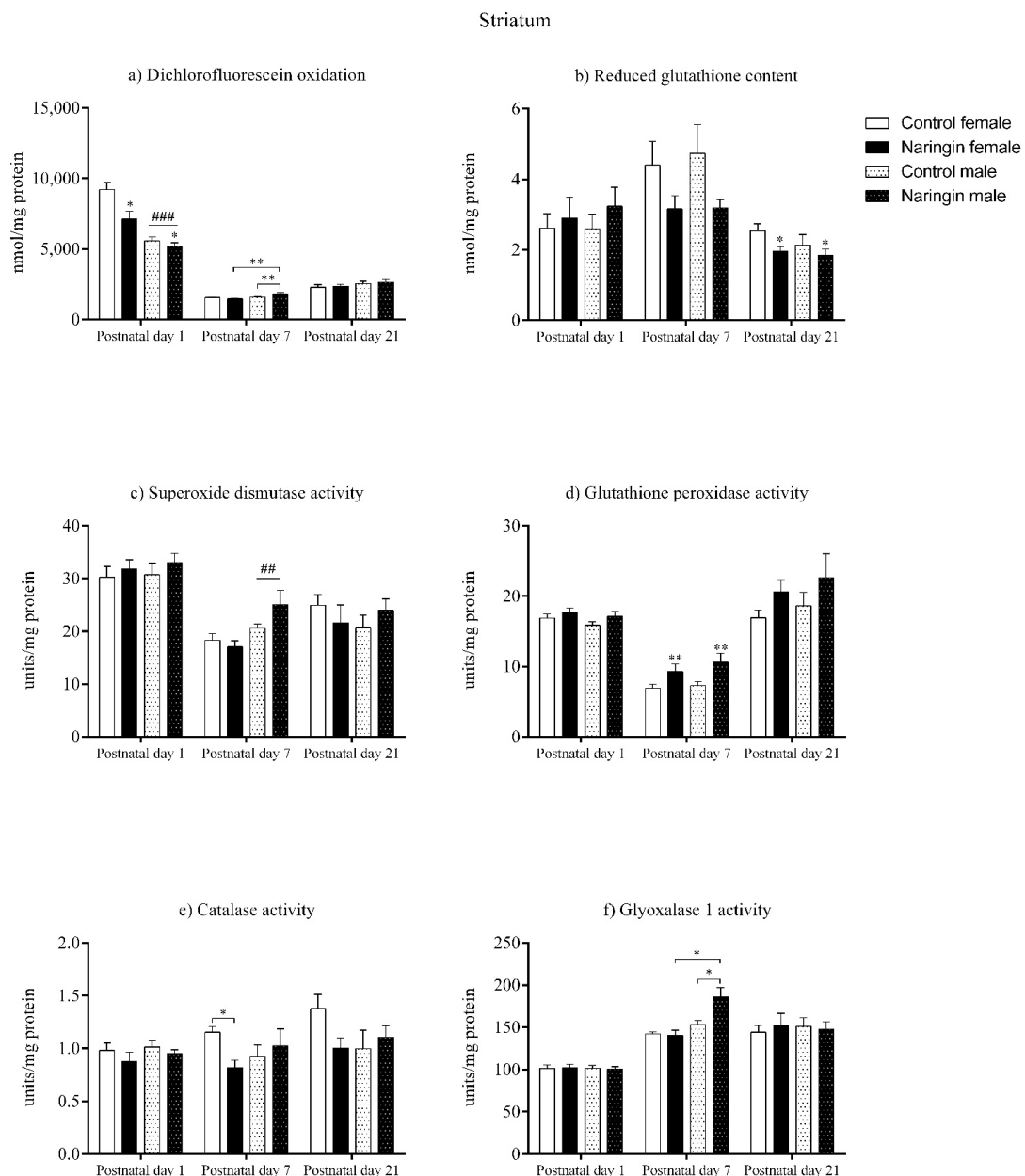


Figure 3. Effects of maternal naringin supplementation during the third week of gestation on the (a) dichlorofluorescein oxidation, (b) reduced glutathione content, (c) superoxide dismutase activity, (d) glutathione-peroxidase activity, (e) catalase activity, and (f) glyoxalase 1 activity in the offspring's striatum on postnatal day 1, 7 and 21. Results are expressed as mean \pm S.E.M. Control female $n = 8$, naringin female $n = 8$, control male $n = 8$, naringin male $n = 6$. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ (two-way ANOVA). Asterisks represent a main supplementation effect, and the hashes on bars represent a main sex effect. The asterisks on bars (single bracket) represent the significant comparisons by Sidak's post-hoc test when interactions occurred.

Moreover, on postnatal day 7, our results showed that maternal naringin supplementation during pregnancy affected the pups' redox status in a sex-specific manner in the striatum. An interaction between supplementation and sex was observed in the total oxidants content (interaction, $p = 0.008$) in which naringin male pups showed increased oxidants level compared to control males, even though the same effects were not observed in the female pups' striatum (Figure 3a). Additionally, the naringin male pups had higher oxidants content when compared to the naringin female pups (interaction, $p = 0.008$). Similarly, the GLO1 and CAT activities also showed interactions between supplementation and sex (interaction, $p = 0.020$; $p = 0.049$; respectively), in which male pups born to naringin-supplemented rats had increased GLO1 activity compared to control males and naringin females (Figure 3f), and females born to supplemented dams showed decreased CAT activity compared to control female pups (Figure 3e).

In addition to the interactions between supplementation and sex detected on postnatal day 7, we also observed other supplementation and sex-related effects in the offspring's striatum at this postnatal age. As shown in Figure 3d and 5, the maternal naringin supplementation during pregnancy also induced an increase in the GPx activity (supplementation effect, $p = 0.003$), which probably led to a reduction in the SOD/GPx ratio (supplementation effect, $p = 0.001$) in both male and female pups (Figure 5c). Moreover, a sex-associated difference was observed in which males showed higher SOD activity (sex effect, $p = 0.002$) compared to the female pups (Figure 3c).

Despite naringin supplementation induced several alterations in the redox status in the offspring's striatum on postnatal day 7, this same pattern was not observed on postnatal day 21, since the only effect elicited by the maternal supplementation was the reduction in the GSH content (supplementation effect, $p = 0.042$), as shown in Figure 3b. Besides, no sex-related differences were observed between male and female pups on postnatal day 21.

3.4. Maternal Naringin Supplementation during the Third Week of Pregnancy Induces a Pro-Oxidative Milieu in the Female Pups' Cerebellum on Postnatal Day 7

As demonstrated by our findings, the maternal naringin supplementation during pregnancy did not induce alterations in the offspring's cerebellum redox status on postnatal day 1, as shown in Figure 4. However, sex-related differences were observed at this postnatal age, in which males showed higher GSH levels (sex effect, $p = 0.003$), GPx (sex effect, $p = 0.004$), and CAT (sex effect, $p < 0.001$) activities (Figure 4b,d,e, respectively), while females displayed higher SOD (sex effect, $p < 0.001$) activity (Figure 4c) and SOD/GPx ratio (sex effect, $p < 0.001$) in the cerebellum (Figure 5c).

On postnatal day 7, in contrast to the findings observed on postnatal day 1, the offspring were affected by maternal naringin supplementation, though the effect occurred in a sex-specific manner. Both female and male pups born to naringin supplemented rats demonstrated increased SOD (supplementation effect, $p = 0.001$), GPx (supplementation effect, $p = 0.012$), and GLO1 (supplementation effect, $p = 0.015$) activities (Figure 4c,d,f, respectively) in the cerebellum one week after birth, and such enzymatic alterations were accompanied by a significant interaction between supplementation and sex in the total oxidants level (interaction, $p = 0.021$). This effect showed that naringin females had increased oxidants compared to the control female pups, but naringin males did not show any alteration regarding the same variable (Figure 4a). Moreover, the naringin females displayed higher oxidants when compared to the naringin males (interaction, $p = 0.021$).

Moreover, such interaction also demonstrated that the control females had higher oxidants content in the cerebellum when compared to the control males on postnatal day 7 (Figure 4a). This difference was followed by other sex-related effects in which females showed higher GSH content (sex effect, $p = 0.002$), SOD activity (sex effect, $p < 0.001$) (Figure 4b,c, respectively), and SOD/GPx ratio (sex effect, $p < 0.001$) (Figure 5c), while males showed a higher GPx activity (sex effect, $p < 0.001$), demonstrating that on postnatal day 7 the female offspring possessed a higher oxidative status than males of the same age (Figure 4d).

Cerebellum

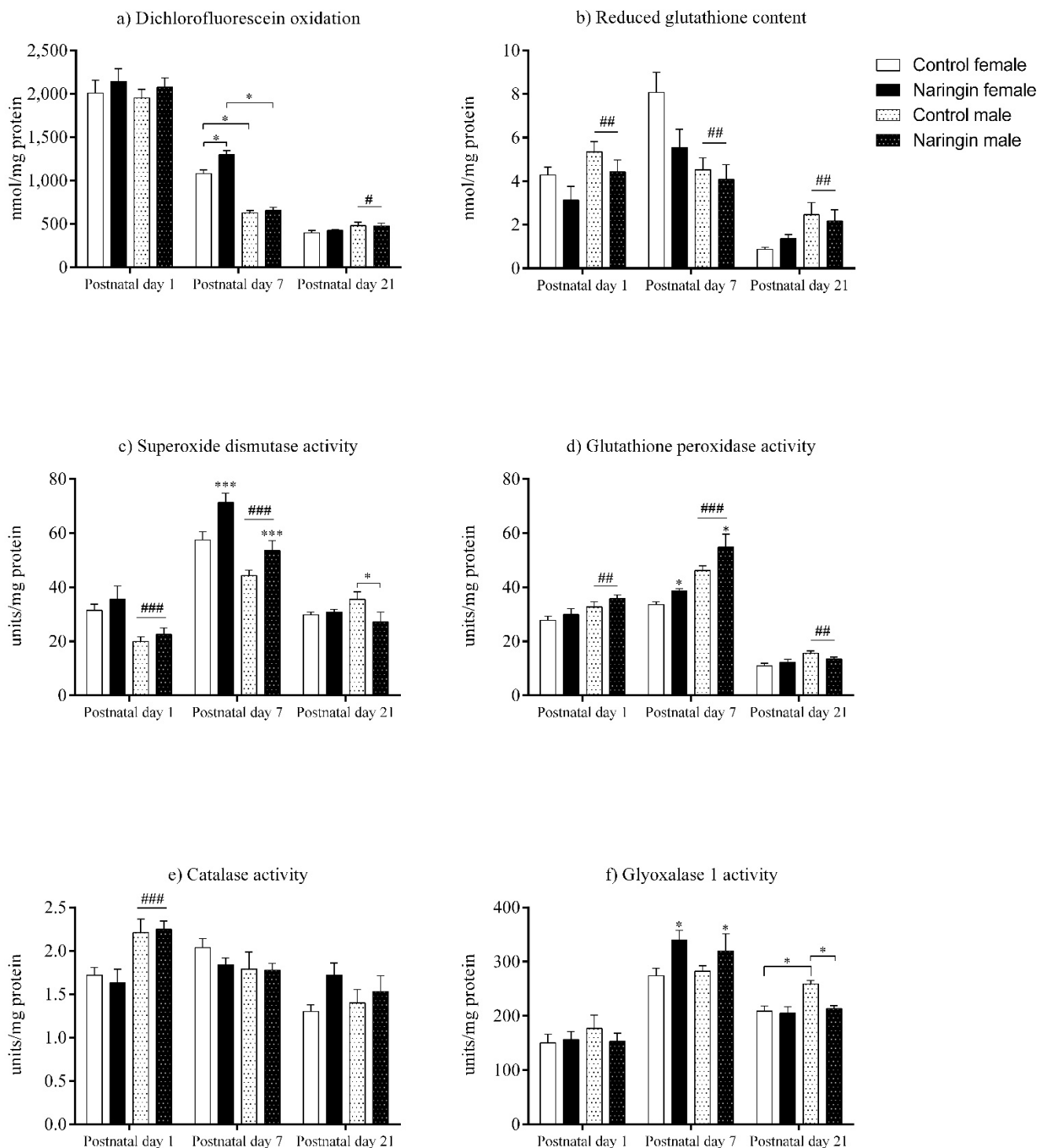


Figure 4. Effects of maternal naringin supplementation during the third week of gestation on the (a) dichlorofluorescein oxidation, (b) reduced glutathione content, (c) superoxide dismutase activity, (d) glutathione-peroxidase activity, (e) catalase activity, and (f) glyoxalase 1 activity in the offspring's cerebellum on postnatal days 1, 7, and 21. Results are expressed as mean \pm S.E.M. Control female $n = 8$, naringin female $n = 8$, control male $n = 8$, naringin male $n = 6$. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ (two-way ANOVA). Asterisks represent a main supplementation effect, and the hashes on bars represent a main sex effect. The asterisks on bars (single bracket) represent the significant comparisons by Sidak's post-hoc test when interactions occurred.

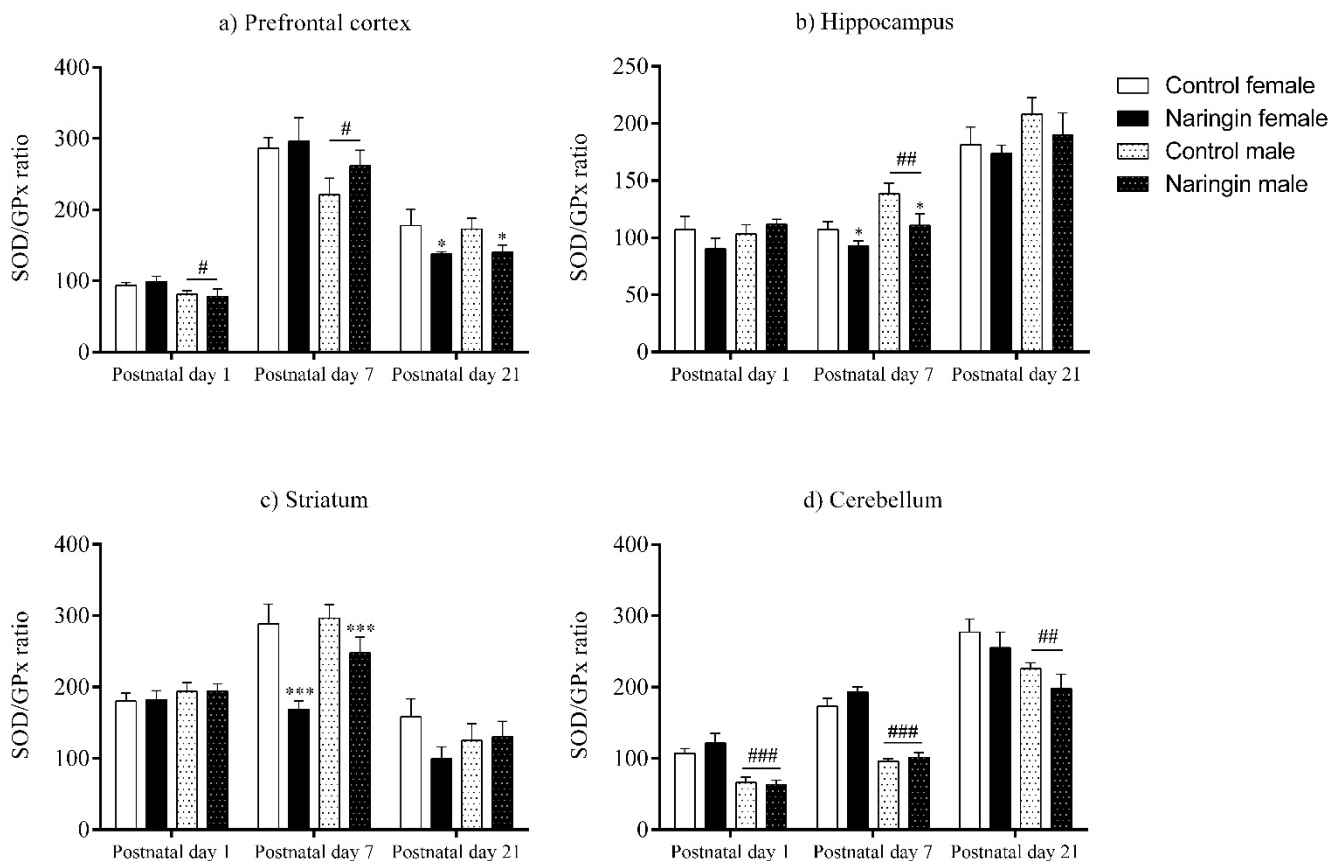


Figure 5. Effects of maternal naringin supplementation during the third week of gestation on the SOD/GPx ratio in the offspring's (a) prefrontal cortex, (b) hippocampus, (c) striatum, and (d) cerebellum on postnatal days 1, 7, and 21. Results are expressed as mean \pm S.E.M. Control female $n = 8$, naringin female $n = 8$, control male $n = 8$, naringin male $n = 6$. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ (two-way ANOVA). Asterisks represent a main supplementation effect, and the hashes on bars represent a main sex effect. The asterisks on bars (single bracket) represent the significant comparisons by Sidak's post-hoc test when interactions occurred.

Additionally, the redox alterations induced by maternal naringin supplementation in the female's cerebellum on postnatal day 7 did not persist up to postnatal day 21, since we did not observe any supplementation-associated effect at this age, as demonstrated in Figure 4. In contrast, the male pups showed two significant interactions between supplementation and sex in the SOD (interaction, $p = 0.035$) and GLO1 (interaction, $p = 0.031$) activities on postnatal day 21, in which male pups born to naringin-supplemented rats showed decreased activities of both enzymes when compared to the control males of the same postnatal age (Figure 4c,f, respectively).

Lastly, the sex-related differences found in the offspring's cerebellum on postnatal day 21 showed that the male pups, differently from postnatal day 7, have increased redox status than the female pups from the same postnatal age (Figure 4). Here, males showed higher total oxidants level (sex effect, $p = 0.022$), GSH content (sex effect, $p = 0.004$), GPx (sex effect, $p = 0.006$), and GLO1 (interaction, $p = 0.031$) activities (Figure 4a,b,d,f, respectively), while the female pups had higher SOD/GPx ratio (sex effect, $p = 0.006$) at this postnatal age (Figure 5c).

4. Discussion

Although polyphenols can induce beneficial effects when supplemented to adult rodents, recent evidence has been demonstrating that polyphenol supplementation can induce detrimental effects if consumed during sensitive periods of development, such as pregnancy, which can affect the fetal intrauterine development and lead to physiological

alterations during the postnatal life [21,48–50]. Therefore, since naringin is a polyphenol able to modulate the redox status, we hypothesized that maternal naringin supplementation during the third week of pregnancy can induce alterations in the offspring's brain redox status during postnatal life.

Considering the total number of alterations found in our model of maternal naringin supplementation, we notice that they are not proportionally distributed among the brain regions and the postnatal ages evaluated here. Such observation demonstrates that the effects induced by maternal naringin supplementation during the third week of pregnancy are still active during offspring's postnatal development, mainly on postnatal day 7. However, most of the redox alterations observed in the younger pups did not persist up to postnatal day 21, which suggests that they are transitory and did not persist along with the offspring's brain development. Similarly, AUGUST et al. (2018) also observed the same pattern in which maternal supplementation with naringenin, the aglycone form of naringin, did not induce alterations in the offspring's brain redox status on postnatal day 21, even though only male pups were evaluated [51].

Moreover, on postnatal day 1, the maternal naringin supplementation during the third week of pregnancy induced a positive modulation in the offspring's brain redox status that occurred in a region-specific manner. As shown in Table 1, the reduced total oxidants content in the pups' striatum was not accompanied by alterations in the antioxidant enzymes activity and GSH level, even though the hippocampus and the prefrontal cortex showed the opposite pattern: alterations in the GPx and GSH, and no changes in the oxidants level with 1 week of maternal naringin supplementation. The total oxidants content is commonly assessed by the DCFH, and together with the antioxidant enzymes activity and GSH levels, they can demonstrate the redox status of a cell or tissue, thereby suggesting that in our model, with exception of the cerebellum, the maternal naringin supplementation triggered an antioxidant milieu in the pup's brain regions on postnatal day 1 [52]. Accordingly, evidence elsewhere has also demonstrated that naringin supplementation can positively modulate the redox status in adult rat's brains, improving antioxidants defenses and reducing the oxidants content, though it occurred with more than one week of naringin intake [34,53,54].

Table 1. Summary of the alterations induced by maternal naringin supplementation during the third week of gestation in the offspring's brain redox status during postnatal development.

	Prefrontal Cortex		Hippocampus		Striatum		Cerebellum	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male
Postnatal day 1	↑ GPx activity	↑ GPx activity	↓ GSH content ↑ GPx activity	↓ GSH content ↑ GPx activity	↓ Total oxidants content	↓ Total oxidants content		
Postnatal day 7	↓ GSH content	↓ GSH content ↑ SOD activity ↑ GPx activity	↓ GSH content ↑ GPx activity ↑ GLO1 activity ↓ SOD/GPx ratio	↓ GSH content ↑ GPx activity ↑ GLO1 activity ↓ SOD/GPx ratio	↑ GPx activity ↓ CAT activity ↓ SOD/GPx ratio	↑ Total oxidants content ↑ GPx activity ↑ GLO1 activity ↓ SOD/GPx ratio	↑ Total oxidants content ↑ SOD activity ↑ GPx activity ↑ GLO1 activity	↑ SOD activity ↑ GPx activity ↑ GLO1 activity
Postnatal day 21	↓ SOD/GPx ratio	↓ SOD/GPx ratio	↓ GLO1 activity	↓ GLO1 activity	↓ GSH content	↓ GSH content		↓ SOD activity ↓ GLO1 activity

↓: means the given parameter was significantly lower in the naringin pups compared to the control pups, ↑: means the given parameter was significantly higher in the naringin pups compared to the control pups.

Interestingly, even though naringin supplementation during pregnancy induced an antioxidant effect in the pup's brain on postnatal day 1, such alteration did not predominantly

occur on postnatal day 7. In the cerebellum and striatum, naringin positively regulated most of the antioxidant enzymes in the male and female offspring; however, both brain regions also displayed a sex-dependent pro-oxidant effect demonstrated by the higher oxidants content. Such increase is in contrast with most published data demonstrating that naringin promotes neuroprotection by reducing oxidants and increasing antioxidant defenses when supplemented to adult rats submitted to different models of cognitive dysfunction [33,55–59]. However, it is also important to consider that in our model naringin alone increased the total oxidants content, a pro-oxidative property of flavonoids that was already demonstrated *in vitro* in a dose-dependent manner [60,61]. Thereby, such prooxidative milieu may have induced the increase in the antioxidant enzyme activities as a compensatory mechanism in the females' cerebellum and the males' striatum, which suggests that regarding these brain regions, female and male offspring were negatively affected by naringin consumption during gestation [62].

Additionally, even though naringin induced a prooxidative effect in the pups' cerebellum and striatum, such alterations were not observed in the prefrontal cortex and hippocampus on postnatal 7 since these brain regions exhibited a positive modulation of the redox status. As shown in Table 1, maternal naringin supplementation reduced the GSH content in the offspring's prefrontal cortex in both sexes, but the male pups also displayed higher SOD and GPx activities, which has been demonstrated in adult male rats' cerebral cortex in a dose-dependent manner [54]. Similarly, the pups' hippocampal antioxidant enzymes were positively modulated while the GSH content was reduced on postnatal day 7. The GSH is the main non-enzymatic antioxidant in the cells that can directly react with reactive species or participate in enzymatic pathways, which suggests that such lower GSH levels might have occurred due to the positive regulation exerted by naringin in the GPx and GLO1 activities in the hippocampus from naringin-exposed pups [42,45,63].

Moreover, further analyses of the brain redox status on postnatal day 21 demonstrated that the naringin-induced alterations observed on postnatal day 7 were transient and did not persist up to weaning. Even though most of the brain regions displayed negative modulations of the GSH, GLO1, and SOD/GPx ratio in both sexes, the cerebellum showed sex-dependent effects in which only males had lower SOD and GLO1 activities. Such alterations observed on postnatal day 21 demonstrate that naringin negatively modulated such parameters, which contrasts with data showing that naringenin supplementation to pregnant rats during gestation did not induce redox alterations in the male pups' cerebellum and hypothalamus, though the naringenin dose used was 50 mg/kg/day [51].

Despite the alterations observed in our model, the underlying mechanisms by which naringin or flavonoid supplementation during pregnancy can modify fetal redox homeostasis remain largely unknown. It is well established that the redox signaling is essential during neurodevelopment since the transition from neural stem cells (NSC) to a neuron involves a metabolic shift from a glycolytic to a more oxidative based metabolism, which consequently increases the amount of mitochondrial-derived reactive oxygen species (ROS) [64,65]. Moreover, other sources of ROS, such as the NADPH-oxidase enzyme family, have also been proposed to play particularly important roles in inducing the neurogenic process [66–68]. Consequently, such an increase in the ROS induces the activation of several signaling cascades involved in the commitment of the NSC and its differentiation into a fully grown neuron [68–71].

Although the transient increase in ROS is essential to induce the commitment of the NSC, such a process needs to be tightly regulated to maintain a physiological and tolerable intracellular level of reactive species [72]. On one hand, persistent and particularly high amounts of ROS, which exceed a physiologically acceptable range, can induce oxidative stress, hinder axonal growth, and impair neurodevelopment, while on the other hand, low ROS amounts have been linked to the maintenance of the quiescent state of the NSC, which reduces its differentiation into neurons [67,73,74].

In addition, the neurogenesis in the developing rat brain can also be affected by alterations in the neuronal redox status. Both the deletion of the PR domain containing 16 (PRDM16) and the mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP) in knockout mice during embryonic development strongly increased ROS levels, which were associated with abnormal cortical layer thickness and development [75,76]. Other cortical and hippocampal neurodevelopmental alterations related to increased ROS content have also been reported by a similar study during embryonic and adult life, which resulted in abnormal motor behavior along with memory and learning defects [77]. However, the abnormal decrease in the ROS levels during brain development has also been associated with histopathological abnormalities in the neonatal rat's cerebellum, which were accompanied by altered motor behavior [78]. Such findings demonstrate the important role that ROS plays as signaling molecules mediating the developing brain neurogenesis. More importantly, they also suggest that in healthy animals, neither a positive nor a negative modulation of the brain's redox status is beneficial to neurodevelopment, since both high and low amounts of reactive species have been shown to alter neurogenesis and induce anatomical and behavioral defects.

Since flavonoids are redox active molecules, they possess a scavenger activity and can directly react with ROS, as well as modulate cell signaling pathways that regulate the expression of several cellular components of the redox network [79–81]. It has been demonstrated that flavonoids and their metabolites have already been detected in the breast milk, amniotic fluid, and rat fetuses, suggesting they can cross the placental barrier and exert their redox regulation directly in the fetal tissues, and consequently modulating the fetal redox status, which can possibly interfere during normal neurodevelopment [82–84]. Moreover, maternal resveratrol supplementation has been shown to modify the methylation levels of the factor nuclear kappa β (NF- κ β) promoter region and the gene expression of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (*Pgc-1 α*) and heme oxygenase 1 (*Hmox1*) genes in the offspring's hippocampus in a model of accelerated senescence during adult life, suggesting that epigenetic modifications may underlie the metabolic effects induced by the high flavonoid intake during gestation [85]. However, as demonstrated by our findings, the alterations induced by maternal naringin supplementation in the offspring's redox status differ according to the brain region, so a given underlying mechanism may be differentially affected according to the developmental stage of each brain region during the period in which the supplementation occurred.

Although the rat and human trajectories of CNS development do not directly correspond, they can be relatively compared when considering the processes that occur during brain development, such as neurogenesis, myelination, synaptogenesis, and synaptic pruning [35,36,86]. As previously discussed, most of the alterations were detected on postnatal day 7, which relatively corresponds to a newborn human when considering brain development [35,36,86]. Moreover, as demonstrated by our findings, the brain regions were differentially affected by maternal naringin supplementation, which might be partially explained by their temporal differences in the developmental processes mentioned above, since such differences also mean distinct neuronal needs and ROS tolerance [35,36,72,86]. However, whether maternal naringin supplementation during pregnancy induces anatomical and behavioral alterations in the offspring, remains a topic for future investigation.

Lastly, as shown in the introduction, the anti-inflammatory and antioxidant properties of polyphenols induced alterations in the closure dynamics of the fetal *ductus arteriosus* when consumed in high amounts during the third trimester of pregnancy, which is the critical window of development of the fetus' ductus [27,28,87]. Similarly, we have demonstrated that maternal naringin supplementation during the third week of gestation induced redox alterations in the offspring's brain, mainly on postnatal day 7, which promoted a sex-dependent pro-oxidative milieu in the cerebellum and striatum at this postnatal age. Although such alterations did not persist up to weaning, they might be detrimental to brain development, since evidence demonstrates that the neonatal brain is more susceptible to oxidative stress, particularly when further considering that redox alterations during the

neonatal period can modify the NSC commitment course, which impairs the neurogenic process and further leads to anatomical and behavioral defects [75,76,78,88–91].

5. Conclusions

We demonstrated for the first time that naringin supplementation during the third week of pregnancy induced region and sex-specific redox alterations in the offspring's brain during postnatal development. Even though maternal naringin consumption positively modulated the pups' brain redox status on postnatal day 1, such effect was not observed on postnatal day 7, in which a pro-oxidative milieu was induced in a sex-dependent manner, thereby suggesting that females and males were specifically affected by the maternal naringin consumption in the cerebellum and striatum, respectively. Differently, the prefrontal cortex and the hippocampus' redox status was positively modulated on postnatal 7. Nevertheless, though naringin induces either a positive or a negative modulation in the offspring's brain redox status, both situations can be detrimental to the NSC commitment process and neurodevelopment. Therefore, future research should focus to unveil the mechanisms underlying the redox alterations induced by maternal naringin supplementation and if such alterations can induce anatomical and behavioral defects related to each of the offspring's brain regions.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijerph18094805/s1>, Table S1: Statistical data from the biochemical analyses performed in the offspring's prefrontal cortex. Table S2: Statistical data from the biochemical analyses performed in the offspring's hippocampus. Table S3: Statistical data from the biochemical analyses performed in the offspring's striatum. Table S4: Statistical data from the biochemical analyses performed in the offspring's cerebellum.

Author Contributions: Conceptualization, B.G.d.S. and C.M.; Data curation, B.G.d.S., M.S.C., R.M.M., P.M.A. and C.M.; Formal analysis, B.G.d.S., C.P.K., P.M.A. and C.M.; Funding acquisition, C.M.; Investigation, B.G.d.S., C.P.K., M.S.C., R.M.M., R.M.H., K.d.S.R., P.M.A. and C.M.; Methodology, B.G.d.S., C.P.K., M.S.C., R.M.M., R.M.H., K.d.S.R., P.M.A. and C.M.; Project administration, B.G.d.S. and C.M.; Resources, C.M.; Supervision, C.M.; Validation, B.G.d.S., C.P.K., M.S.C., R.M.H., K.d.S.R., P.M.A. and C.M.; Visualization, B.G.d.S., M.S.C., R.M.M., R.M.H., K.d.S.R., P.M.A. and C.M.; Writing—original draft, B.G.d.S.; Writing—review & editing, B.G.d.S., C.P.K., K.d.S.R., P.M.A. and C.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study received financial support from PROPESQ/UFRGS and CNPq (PQ n°: 304293/2018-0 and INCT 465671/2014-4).

Institutional Review Board Statement: The experimental design and procedures were approved by the local Ethics Commission on Animal Use (CEUA/UFRGS), under protocol number 35332. The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, the ARRIVE guidelines, the National Animal Rights Regulations (Law 11.794/2008), the American National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH publication No. 80-23, revised 1996), and the Directive 2010/63/EU.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available in the Supplementary Tables S1–S4.

Acknowledgments: The authors would like to thank the animal facility staff, especially the veterinary Fernanda Bastos de Mello who kindly provided and performed the mating of the rat dams.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Chen, R.; Qi, Q.L.; Wang, M.T.; Li, Q.Y. Therapeutic potential of naringin: An overview. *Pharm. Biol.* **2016**, *54*, 3203–3210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Viswanatha, G.L.; Shylaja, H.; Moolemath, Y. The beneficial role of Naringin- a citrus bioflavonoid, against oxidative stress-induced neurobehavioral disorders and cognitive dysfunction in rodents: A systematic review and meta-analysis. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *94*, 909–929. [[CrossRef](#)]
3. Wang, D.; Gao, K.; Li, X.; Shen, X.; Zhang, X.; Ma, C.; Qin, C.; Zhang, L. Long-term naringin consumption reverses a glucose uptake defect and improves cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2012**, *102*, 13–20. [[CrossRef](#)]
4. Chtourou, Y.; Gargouri, B.; Kebieche, M.; Fetoui, H. Naringin Abrogates Cisplatin-Induced Cognitive Deficits and Cholinergic Dysfunction Through the Down-Regulation of AChE Expression and iNOS Signaling Pathways in Hippocampus of Aged Rats. *J. Mol. Neurosci.* **2015**, *56*, 349–362. [[CrossRef](#)]
5. Golechha, M.; Sarangal, V.; Bhatia, J.; Chaudhry, U.; Saluja, D.; Arya, D.S. Naringin ameliorates pentylentetrazol-induced seizures and associated oxidative stress, inflammation, and cognitive impairment in rats: Possible mechanisms of neuroprotection. *Epilepsy Behav.* **2014**, *41*, 98–102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Dow, C.A.; Going, S.B.; Chow, H.H.S.; Patil, B.S.; Thomson, C.A. The effects of daily consumption of grapefruit on body weight, lipids, and blood pressure in healthy, overweight adults. *Metabolism* **2012**, *61*, 1026–1035. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Jung, U.J.; Kim, H.J.; Lee, J.S.; Lee, M.K.; Kim, H.O.; Park, E.J.; Kim, H.K.; Jeong, T.S.; Choi, M.S. Naringin supplementation lowers plasma lipids and enhances erythrocyte antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic subjects. *Clin. Nutr.* **2003**, *22*, 561–568. [[CrossRef](#)]
8. Aptekmann, N.P.; Cesar, T.B. Long-term orange juice consumption is associated with low LDL-cholesterol and apolipoprotein B in normal and moderately hypercholesterolemic subjects. *Lipids Health Dis.* **2013**, *12*, 119. [[CrossRef](#)]
9. Kurowska, E.M.; Spence, J.D.; Jordan, J.; Wetmore, S.; Freeman, D.J.; Piche, L.A.; Serratore, P. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *72*, 1095–1100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Snyder, F.J.; Dundas, M.L.; Kirkpatrick, C.; Neill, K.S. Use and safety perceptions regarding herbal supplements: A study of older persons in Southeast Idaho. *J. Nutr. Elder.* **2009**, *28*, 81–95. [[CrossRef](#)]
11. Kirkpatrick, C.F.; Page, R.M.; Hayward, K.S. Nonvitamin, nonmineral supplement use and beliefs about safety and efficacy among rural older adults in southeast and south central Idaho. *J. Nutr. Elder.* **2006**, *26*, 59–82. [[CrossRef](#)]
12. Read, M.H.; Klomp, S.; Mather, D.; Todd, S. Use of Herbal Supplements Reported by Older Adults in Congregate Meal Sites. *Top. Clin. Nutr.* **2002**, *17*, 62–67. [[CrossRef](#)]
13. Harnack, L.J.; DeRosier, K.L.; Rydell, S.A. Results of a population-based survey of adults' attitudes and beliefs about herbal products. *J. Am. Pharm. Assoc.* **2003**, *43*, 596–601. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Holst, L.; Wright, D.; Haavik, S.; Nordeng, H. Remedies During Pregnancy. *J. Altern. Complement. Med.* **2009**, *15*, 787–792. [[CrossRef](#)]
15. Forster, D.A.; Denning, A.; Wills, G.; Bolger, M.; McCarthy, E. Herbal medicine use during pregnancy in a group of Australian women. *BMC Pregnancy Childbirth* **2006**, *6*, 21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Kennedy, D.A.; Lupattelli, A.; Koren, G.; Nordeng, H. Herbal medicine use in pregnancy: Results of a multinational study. *BMC Complement. Altern. Med.* **2013**, *13*, 355. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Nordeng, H.; Havnen, G.C. Use of herbal drugs in pregnancy: A survey among 400 Norwegian women. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* **2004**, *13*, 371–380. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Skibola, C.F.; Smith, M.T. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic. Biol. Med.* **2000**, *29*, 375–383. [[CrossRef](#)]
19. Mennen, L.I.; Walker, R.; Bennetau-Pelissero, C.; Scalbert, A. Risks and safety of polyphenol consumption. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*, 326S–329S. [[CrossRef](#)]
20. Suzuki, K. The developing world of DOHaD. *J. Dev. Orig. Health Dis.* **2018**, *9*, 266–269. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Hachul, A.C.L.; Boldarine, V.T.; Neto, N.I.P.; Moreno, M.F.; Carvalho, P.O.; Sawaya, A.C.H.F.; Ribeiro, E.B.; Oller do Nascimento, C.M.; Oyama, L.M. Effect of the consumption of green tea extract during pregnancy and lactation on metabolism of mothers and 28d-old offspring. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1869. [[CrossRef](#)]
22. Del Bas, J.M.; Crescenti, A.; Arola-Arnal, A.; Oms-Oliu, G.; Arola, L.; Caimari, A. Intake of grape procyanidins during gestation and lactation impairs reverse cholesterol transport and increases atherogenic risk indexes in adult offspring. *J. Nutr. Biochem.* **2015**, *26*, 1670–1677. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Vanhees, K.; van Schooten, F.J.; van Waalwijk van Doorn-Khosrovani, S.B.; van Helden, S.; Munnia, A.; Peluso, M.; Briedé, J.J.; Haenen, G.R.M.M.; Godschalk, R.W.L. Intrauterine exposure to flavonoids modifies antioxidant status at adulthood and decreases oxidative stress-induced DNA damage. *Free Radic. Biol. Med.* **2013**, *57*, 154–161. [[CrossRef](#)]
24. Hilger, D.K.; Wohlenberg, M.F.; Schaffer, T.K.; de Machado, F.S.; Gonçalves, L.K.; Bortolato, G.; Dani, G.; Rodrigues, A.; Funchal, C.; Dani, C. Purple Grape Juice, an Important Flavonoids Source, Influence in Biochemical Parameters in Offspring of Wistar Rats. *Food Nutr. Sci.* **2015**, *06*, 683–691. [[CrossRef](#)]

25. Schaffer, T.K.; Wohlenberg, M.F.; de Souza Machado, F.; Bortolato, G.; Marinho, J.P.; da Silva Medeiros, N.; Mello, A.; Agostini, F.; Gerson, S.; Funchal, C.; et al. Chronic consumption of purple grape juice in gestational-lactation and post lactation promotes anxiolity effect and antioxidant defense improvement in brain from Wistar male offsprings. *J. Nutr. Intermed. Metab.* **2019**, *15*, 46–54. [[CrossRef](#)]
26. Barenys, M.; Gassmann, K.; Baksmeier, C.; Heinz, S.; Reverte, I.; Schmuck, M.; Temme, T.; Bendt, F.; Zschauer, T.-C.; Rockel, T.D.; et al. Epigallocatechin gallate (EGCG) inhibits adhesion and migration of neural progenitor cells in vitro. *Arch. Toxicol.* **2017**, *91*, 827–837. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Zielinsky, P.; Piccoli, A.L.; Manica, J.L.; Nicoloso, L.H.; Menezes, H.; Busato, A.; Moraes, M.R.; Silva, J.; Bender, L.; Pizzato, P.; et al. Maternal consumption of polyphenol-rich foods in late pregnancy and fetal ductus arteriosus flow dynamics. *J. Perinatol.* **2010**, *30*, 17–21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Bubols, G.B.; Zielinsky, P.; Piccoli, A.L.; Nicoloso, L.H.; Vian, I.; Moro, A.M.; Charão, M.F.; Brucker, N.; Bulcão, R.P.; Nascimento, S.N.; et al. Nitric oxide and reactive species are modulated in the polyphenol-induced ductus arteriosus constriction in pregnant sheep. *Prenat. Diagn.* **2014**, *34*, 1268–1276. [[CrossRef](#)]
29. Zielinsky, P.; Busato, S. Prenatal effects of maternal consumption of polyphenol-rich foods in late pregnancy upon fetal ductus arteriosus. *Birth Defects Res. Part C Embryo Today Rev.* **2013**, *99*, 256–274. [[CrossRef](#)]
30. Castillo, J.; Benavente, O.; del Rio, J.A. Naringin and Neohesperidin Levels during Development of Leaves, Flower Buds, and Fruits of Citrus aurantium. *Plant Physiol.* **1992**, *99*, 67–73. [[CrossRef](#)]
31. Yusof, S.; Ghazali, H.M.; King, G.S. Naringin content in local citrus fruits. *Food Chem.* **1990**, *37*, 113–121. [[CrossRef](#)]
32. Stone, V.; Crestani, M.S.; Saccomori, A.B.; Mariño dal Magro, B.; Maurmann, R.M.; August, P.M.; dos Santos, B.G.; Klein, C.P.; Hackenhaar, F.S.; da Silveira Benfato, M.; et al. Gestational caloric restriction improves redox homeostasis parameters in the brain of Wistar rats: A screening from birth to adulthood. *J. Nutr. Biochem.* **2019**, *67*, 138–148. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Gaur, V.; Aggarwal, A.; Kumar, A. Protective effect of naringin against ischemic reperfusion cerebral injury: Possible neurobehavioral, biochemical and cellular alterations in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* **2009**, *616*, 147–154. [[CrossRef](#)]
34. Chtourou, Y.; Aouey, B.; Kebieche, M.; Fetoui, H. Protective role of naringin against cisplatin induced oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in rat striatum via suppressing ROS-mediated NF- κ B and P53 signaling pathways. *Chem. Biol. Interact.* **2015**, *239*, 76–86. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Rice, D.; Barone, S. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models. *Environ. Health Perspect.* **2000**, *108*, 511–533. [[CrossRef](#)]
36. Andersen, S.L. Trajectories of brain development: Point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2003**, *27*, 3–18. [[CrossRef](#)]
37. Reemst, K.; Noctor, S.C.; Lucassen, P.J.; Hol, E.M. The indispensable roles of microglia and astrocytes during brain development. *Front. Hum. Neurosci.* **2016**, *10*, 566. [[CrossRef](#)]
38. Kupper, L.L. Litter Effect. In *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online*; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, UK, 2014; pp. 1–4.
39. LeBel, C.P.; Ischiropoulos, H.; Bondy, S.C. Evaluation of the Probe 2',7'-Dichlorofluorescein as an Indicator of Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress. *Chem. Res. Toxicol.* **1992**, *5*, 227–231. [[CrossRef](#)]
40. Conceição, E.P.S.; Moura, E.G.; Carvalho, J.C.; Oliveira, E.; Lisboa, P.C. Early redox imbalance is associated with liver dysfunction at weaning in overfed rats. *J. Physiol.* **2015**, *593*, 4799–4811. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. 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.* **1972**, *247*, 3170–3175. [[CrossRef](#)]
42. Wendel, A. Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymol.* **1981**, *77*, 325–333. [[CrossRef](#)]
43. Aebi, H. [13] Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* **1984**, *105*, 121–126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Thornalley, P.J.; Tisdale, M.J. Inhibition of proliferation of human promyelocytic leukaemia HL60 cells by S-d-lactoylglutathione in vitro. *Leuk. Res.* **1988**, *12*, 897–904. [[CrossRef](#)]
45. Browne, R.W.; Armstrong, D. Reduced glutathione and glutathione disulfide. *Methods Mol. Biol.* **1998**, *108*, 347–352. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **1951**, *193*, 265–275. [[CrossRef](#)]
47. Peterson, G.L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal. Biochem.* **1977**, *83*, 346–356. [[CrossRef](#)]
48. Caimari, A.; Mariné-Casadó, R.; Boqué, N.; Crescenti, A.; Arola, L.; del Bas, J.M. Maternal intake of grape seed procyanidins during lactation induces insulin resistance and an adiponectin resistance-like phenotype in rat offspring. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 12573. [[CrossRef](#)]
49. Bałan, B.J.; Skopińska-Różewska, E.; Skopiński, P.; Zdanowski, R.; Leśniak, M.; Kiepusa, A.; Lewicki, S. Morphometric abnormalities in the spleen of the progeny of mice fed epigallocatechin during gestation and nursing. *Pol. J. Vet. Sci.* **2017**, *20*, 5–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Hachul, A.C.L.; Boldarine, V.T.; Neto, N.I.P.; Moreno, M.F.; Ribeiro, E.B.; do Nascimento, O.C.M.; Oyama, L.M. Maternal consumption of green tea extract during pregnancy and lactation alters offspring's metabolism in rats. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0199969. [[CrossRef](#)]

51. August, P.M.; Maurmann, R.M.; Saccomori, A.B.; Scortegagna, M.C.; Flores, E.B.; Klein, C.P.; dos Santos, B.G.; Stone, V.; Dal Magro, B.M.; Cristhian, L.; et al. Effect of maternal antioxidant supplementation and/or exercise practice during pregnancy on postnatal overnutrition induced by litter size reduction: Brain redox homeostasis at weaning. *Int. J. Dev. Neurosci.* **2018**, *71*, 146–155. [[CrossRef](#)]
52. Eruslanov, E. *Advanced Protocols in Oxidative Stress I*; Armstrong, D., Ed.; Methods in Molecular Biology; Humana Press: Totowa, NJ, USA, 2010; Volume 594, ISBN 978-1-60761-410-4.
53. Kumar, A.; Prakash, A.; Dogra, S. Naringin alleviates cognitive impairment, mitochondrial dysfunction and oxidative stress induced by d-galactose in mice. *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 626–632. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Sachdeva, A.K.; Chopra, K. Naringin mitigate okadaic acid-induced cognitive impairment in an experimental paradigm of Alzheimer's disease. *J. Funct. Foods* **2015**, *19*, 110–125. [[CrossRef](#)]
55. Kumar, P.; Kumar, A. Protective effect of hesperidin and naringin against 3-nitropropionic acid induced Huntington's like symptoms in rats: Possible role of nitric oxide. *Behav. Brain Res.* **2010**, *206*, 38–46. [[CrossRef](#)]
56. Sachdeva, A.K.; Kuhad, A.; Chopra, K. Naringin ameliorates memory deficits in experimental paradigm of Alzheimer's disease by attenuating mitochondrial dysfunction. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2014**, *127*, 101–110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Cui, Q.J.; Wang, L.Y.; Wei, Z.X.; Qu, W.S. Continual naringin treatment benefits the recovery of traumatic brain injury in rats through reducing oxidative and inflammatory alterations. *Neurochem. Res.* **2014**, *39*, 1254–1262. [[CrossRef](#)]
58. Chtourou, Y.; Slima, A.B.; Gdoura, R.; Fetoui, H. Naringenin Mitigates Iron-Induced Anxiety-Like Behavioral Impairment, Mitochondrial Dysfunctions, Ectonucleotidases and Acetylcholinesterase Alteration Activities in Rat Hippocampus. *Neurochem. Res.* **2015**, *40*, 1563–1575. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Frandsen, J.; Narayanasamy, P. Flavonoid Enhances the Glyoxalase Pathway in Cerebellar Neurons to Retain Cellular Functions. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 5126. [[CrossRef](#)]
60. Yen, G.C.; Duh, P.; Der Tsai, H.L.; Huang, S.L. Pro-oxidative properties of flavonoids in human lymphocytes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, *67*, 1215–1222. [[CrossRef](#)]
61. Matsuo, M.; Sasaki, N.; Saga, K.; Kaneko, T. Cytotoxicity of flavonoids toward cultured normal human cells. *Biol. Pharm. Bull.* **2005**, *28*, 253–259. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Halliwell, B. The wanderings of a free radical. *Free Radic. Biol. Med.* **2009**, *46*, 531–542. [[CrossRef](#)]
63. Allaman, I.; Bélanger, M.; Magistretti, P.J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis. *Front. Neurosci.* **2015**, *9*, 23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Haack, F.; Lemcke, H.; Ewald, R.; Rharass, T.; Uhrmacher, A.M. Spatio-temporal Model of Endogenous ROS and Raft-Dependent WNT/Beta-Catenin Signaling Driving Cell Fate Commitment in Human Neural Progenitor Cells. *PLoS Comput. Biol.* **2015**, *11*, e1004106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Zheng, X.; Boyer, L.; Jin, M.; Mertens, J.; Kim, Y.; Ma, L.; Ma, L.; Hamm, M.; Gage, F.H.; Hunter, T. Metabolic reprogramming during neuronal differentiation from aerobic glycolysis to neuronal oxidative phosphorylation. *Elife* **2016**, *5*, e13374. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Park, S.-Y.; Kang, M.-J.; Han, J.-S. Neuronal NOS Induces Neuronal Differentiation Through a PKC α -Dependent GSK3 β Inactivation Pathway in Hippocampal Neural Progenitor Cells. *Mol. Neurobiol.* **2017**, *54*, 5646–5656. [[CrossRef](#)]
67. Park, K.-Y.; Na, Y.; Kim, M.S. Role of Nox4 in Neuronal Differentiation of Mouse Subventricular Zone Neural Stem Cells. *J. Life Sci.* **2016**, *26*, 8–16. [[CrossRef](#)]
68. Olguín-Albuerne, M.; Morán, J. ROS Produced by NOX2 Controls In Vitro Development of Cerebellar Granule Neurons Development. *ASN Neuro* **2015**, *7*. [[CrossRef](#)]
69. Yan, Y.; Wladyka, C.; Fujii, J.; Sockanathan, S. Prdx4 is a compartment-specific H₂O₂ sensor that regulates neurogenesis by controlling surface expression of GDE2. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 7006. [[CrossRef](#)]
70. Munnamalai, V.; Suter, D.M. Reactive oxygen species regulate F-actin dynamics in neuronal growth cones and neurite outgrowth. *J. Neurochem.* **2009**, *108*, 644–661. [[CrossRef](#)]
71. Kim, S.-U.; Park, Y.-H.; Kim, J.-M.; Sun, H.-N.; Song, I.-S.; Huang, S.M.; Lee, S.-H.; Chae, J.-I.; Hong, S.; Sik Choi, S.; et al. Dominant Role of Peroxiredoxin/JNK Axis in Stemness Regulation During Neurogenesis from Embryonic Stem Cells. *Stem Cells* **2014**, *32*, 998–1011. [[CrossRef](#)]
72. Wilson, C.; Muñoz-Palma, E.; González-Billault, C. From birth to death: A role for reactive oxygen species in neuronal development. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2018**, *80*, 43–49. [[CrossRef](#)]
73. Collins, S.J.; Tumpach, C.; Groveman, B.R.; Drew, S.C.; Haigh, C.L. Prion protein cleavage fragments regulate adult neural stem cell quiescence through redox modulation of mitochondrial fission and SOD2 expression. *Cell. Mol. Life Sci.* **2018**, *75*, 3231–3249. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Morinaka, A.; Yamada, M.; Itofusa, R.; Funato, Y.; Yoshimura, Y.; Nakamura, F.; Yoshimura, T.; Kaibuchi, K.; Goshima, Y.; Hoshino, M.; et al. Thioredoxin mediates oxidation-dependent phosphorylation of CRMP2 and growth cone collapse. *Sci. Signal.* **2011**, *4*, ra26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Chui, A.; Zhang, Q.; Dai, Q.; Shi, S.-H. Oxidative stress regulates progenitor behavior and cortical neurogenesis. *Development* **2020**, *147*, dev184150. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Ji, F.; Shen, T.; Zou, W.; Jiao, J. UCP2 Regulates Embryonic Neurogenesis via ROS-Mediated Yap Alternation in the Developing Neocortex. *Stem Cells* **2017**, *35*, 1479–1492. [[CrossRef](#)]

77. Khacho, M.; Clark, A.; Svoboda, D.S.; MacLaurin, J.G.; Lagace, D.C.; Park, D.S.; Slack, R.S. Mitochondrial dysfunction underlies cognitive defects as a result of neural stem cell depletion and impaired neurogenesis. *Hum. Mol. Genet.* **2017**, *26*, 3327–3341. [[CrossRef](#)]
78. Coyoy, A.; Olguín-Albuerne, M.; Martínez-Briseño, P.; Morán, J. Role of reactive oxygen species and NADPH-oxidase in the development of rat cerebellum. *Neurochem. Int.* **2013**, *62*, 998–1011. [[CrossRef](#)]
79. Schroeter, H.; Spencer, J.P.E.; Rice-Evans, C.; Williams, R.J. Flavonoids protect neurons from oxidized low-density-lipoprotein-induced apoptosis involving c-Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun and caspase-3. *Biochem. J.* **2001**, *358*, 547–557. [[CrossRef](#)]
80. Kobuchi, H.; Roy, S.; Sen, C.K.; Nguyen, H.G.; Packer, L. Quercetin inhibits inducible ICAM-1 expression in human endothelial cells through the JNK pathway. *Am. J. Physiol. Physiol.* **1999**, *277*, C403–C411. [[CrossRef](#)]
81. Spencer, J.P.E.; Schroeter, H.; Kuhnle, G.; Srail, S.K.S.; Tyrrell, R.M.; Hahn, U.; Rice-Evans, C. Epicatechin and its in vivo metabolite, 3'-O-methyl epicatechin, protect human fibroblasts from oxidative-stress-induced cell death involving caspase-3 activation. *Biochem. J.* **2001**, *354*, 493–500. [[CrossRef](#)]
82. Arola-Arnal, A.; Oms-Oliu, G.; Crescenti, A.; del Bas, J.M.; Ras, M.R.; Arola, L.; Caimari, A. Distribution of grape seed flavanols and their metabolites in pregnant rats and their fetuses. *Mol. Nutr. Food Res.* **2013**, *57*, 1741–1752. [[CrossRef](#)]
83. Abd El Mohsen, M.; Marks, J.; Kuhnle, G.; Rice-Evans, C.; Moore, K.; Gibson, G.; Debnam, E.; Srail, S.K. The differential tissue distribution of the citrus flavanone naringenin following gastric instillation. *Free Radic. Res.* **2004**, *38*, 1329–1340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Jochum, F.; Alteheld, B.; Meinardus, P.; Dahlinger, N.; Nomayo, A.; Stehle, P. Mothers' Consumption of Soy Drink But Not Black Tea Increases the Flavonoid Content of Term Breast Milk: A Pilot Randomized, Controlled Intervention Study. *Ann. Nutr. Metab.* **2017**, *70*, 147–153. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Izquierdo, V.; Palomera-Ávalos, V.; López-Ruiz, S.; Canudas, A.-M.; Pallàs, M.; Griñán-Ferré, C. Maternal Resveratrol Supplementation Prevents Cognitive Decline in Senescent Mice Offspring. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 1134. [[CrossRef](#)]
86. Bayer, S.A.; Altman, J.; Russo, R.J.; Zhang, X. Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology* **1993**, *14*, 83–144. [[PubMed](#)]
87. Zielinsky, P.; Martignoni, F.V.; Vian, I. Deleterious effects of maternal ingestion of cocoa upon fetal ductus arteriosus in late pregnancy. *Front. Pharmacol.* **2014**, *5*, 281. [[CrossRef](#)]
88. Torres-Cuevas, I.; Parra-Llorca, A.; Sánchez-Illana, A.; Nuñez-Ramiro, A.; Kuligowski, J.; Cháfer-Pericás, C.; Cernada, M.; Escobar, J.; Vento, M. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. *Redox Biol.* **2017**, *12*, 674–681. [[CrossRef](#)]
89. Perrone, S.; Tataranno, L.M.; Stazzoni, G.; Ramenghi, L.; Buonocore, G. Brain susceptibility to oxidative stress in the perinatal period. *J. Matern. Neonatal Med.* **2015**, *28*, 2291–2295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Inder, T.; Mocatta, T.; Darlow, B.; Spencer, C.; Volpe, J.J.; Winterbourn, C. Elevated Free Radical Products in the Cerebrospinal Fluid of VLBW Infants with Cerebral White Matter Injury. *Pediatr. Res.* **2002**, *52*, 213–218. [[CrossRef](#)]
91. Khacho, M.; Clark, A.; Svoboda, D.S.; Azzi, J.; MacLaurin, J.G.; Meghaizel, C.; Sesaki, H.; Lagace, D.C.; Germain, M.; Harper, M.-E.; et al. Mitochondrial Dynamics Impacts Stem Cell Identity and Fate Decisions by Regulating a Nuclear Transcriptional Program. *Cell Stem Cell* **2016**, *19*, 232–247. [[CrossRef](#)]

Supplementary table S1: Statistical data from the biochemical analyses performed in the offspring's prefrontal cortex.

Prefrontal cortex

Postnatal day 1

<i>Parameter</i>	<i>Supplementation effect</i>		<i>Sex effect</i>		<i>Interaction</i>	
	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.770	F(1,34)=0.087	<0.001	F(1,34)=68.661	0.780	F(1,34)=0.079
Superoxide dismutase activity	0.392	F(1,32)=0.752	0.592	F(1,32)=0.292	0.956	F(1,32)=0.003
Glutathione peroxidase activity	0.024	F(1,31)=5.598	0.003	F(1,31)=10.710	0.330	F(1,31)=0.978
Catalase activity	0.610	F(1,34)=0.265	0.100	F(1,34)=2.854	0.157	F(1,34)=2.098

Glyoxalase activity	0.349	F(1,34)=0.901	0.048	F(1,34)=4.212	0.427	F(1,34)=0.648
Reduced glutathione content	0.669	F(1,23)=0.187	0.397	F(1,23)=0.746	0.972	F(1,23)=0.001
SOD/GPx ratio	0.886	F(1,26)=0.021	0.029	F(1,26)=5.378	0.563	F(1,26)=0.344
<i>Postnatal day 7</i>						
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.437	F(1,32)=0.620	<0.001	F(1,32)=15.350	0.190	F(1,32)=1.792
Superoxide dismutase activity	0.189	F(1,33)=1.795	0.981	F(1,33)=0.001	0.002	F(1,33)=11.050
Glutathione peroxidase activity	0.833	F(1,33)=0.045	0.004	F(1,33)=9.834	0.008	F(1,33)=8.050
Catalase activity	0.067	F(1,30)=3.607	0.038	F(1,30)=4.701	0.442	F(1,30)=0.606
Glyoxalase activity	0.787	F(1,35)=0.074	0.001	F(1,35)=13.239	0.026	F(1,35)=5.433
Reduced glutathione content	0.012	F(1,33)=7.095	0.110	F(1,33)=2.695	0.390	F(1,33)=0.758
SOD/GPx ratio	0.274	F(1,27)=1.249	0.038	F(1,27)=4.764	0.514	F(1,27)=0.436
<i>Postnatal day 21</i>						
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.359	F(1,26)=0.359	0.446	F(1,26)=0.599	0.887	F(1,26)=0.021

Superoxide dismutase activity	0.785	F(1,28)=0.076	0.011	F(1,28)=7.418	0.792	F(1,28)=0.071
Glutathione peroxidase activity	0.111	F(1,28)=2.712	0.009	F(1,28)=7.934	0.565	F(1,28)=0.340
Catalase activity	0.449	F(1,25)=0.591	0.188	F(1,25)=1.828	0.084	F(1,25)=3.243
Glyoxalase activity	0.541	F(1,28)=0.383	0.194	F(1,28)=1.772	0.548	F(1,28)=0.370
Reduced glutathione content	0.481	F(1,25)=0.511	0.362	F(1,25)=0.862	0.717	F(1,25)=0.135
SOD/GPx ratio	0.022	F(1,23)=6.063	0.944	F(1,23)=0.005	0.790	F(1,23)=0.072

Supplementary table S2: Statistical data from the biochemical analyses performed in the offspring's hippocampus.

Hippocampus						
Postnatal day 1						
<i>Parameter</i>	<i>Supplementation effect</i>		<i>Sex effect</i>		<i>Interaction</i>	
	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.863	F(1,37)=0.030	0.006	F(1,37)=8.636	0.860	F(1,37)=0.031
Superoxide dismutase activity	0.795	F(1,39)=0.068	0.014	F(1,39)=6.680	0.260	F(1,39)=1.307
Glutathione peroxidase activity	0.001	F(1,42)=12.539	<0.001	F(1,42)=16.927	0.934	F(1,42)=0.007
Catalase activity	0.078	F(1,33)=3.307	0.092	F(1,33)=3.021	0.931	F(1,33)=0.008

Glyoxalase activity	0.152	F(1,36)=2.143	0.159	F(1,36)=2.066	0.071	F(1,36)=3.470
Reduced glutathione content	0.003	F(1,29)=10.193	0.002	F(1,29)=11.897	0.981	F(1,29)=0.001
SOD/GPx ratio	0.631	F(1,31)=0.235	0.324	F(1,31)=1.004	0.152	F(1,31)=2.155
<i>Postnatal day 7</i>						
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.184	F(1,36)=1.839	<0.001	F(1,36)=28.105	0.314	F(1,36)=1.044
Superoxide dismutase activity	0.314	F(1,35)=1.049	0.101	F(1,35)=2.836	0.829	F(1,35)=0.047
Glutathione peroxidase activity	0.026	F(1,34)=5.422	<0.001	F(1,34)=36.052	0.680	F(1,34)=0.173
Catalase activity	0.052	F(1,34)=4.063	0.535	F(1,34)=0.392	0.864	F(1,34)=0.030
Glyoxalase activity	<0.001	F(1,35)=16.209	0.548	F(1,35)=0.392	0.809	F(1,35)=0.059
Reduced glutathione content	0.002	F(1,35)=11.822	0.419	F(1,35)=0.670	0.854	F(1,35)=0.034
SOD/GPx ratio	0.013	F(1,33)=6.884	0.005	F(1,33)=9.251	0.416	F(1,33)=0.677
<i>Postnatal day 21</i>						
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.905	F(1,29)=0.014	0.045	F(1,29)=4.393	0.743	F(1,29)=0.109

Superoxide dismutase activity	0.315	F(1,30)=1.045	0.262	F(1,30)=1.309	0.556	F(1,30)=0.354
Glutathione peroxidase activity	0.481	F(1,30)=0.508	0.480	F(1,30)=0.511	0.703	F(1,30)=0.148
Catalase activity	0.214	F(1,30)=1.611	0.037	F(1,30)=4.755	0.353	F(1,30)=0.891
Glyoxalase activity	0.039	F(1,30)=4.671	0.990	F(1,30)=0.000	0.511	F(1,30)=0.442
Reduced glutathione content	0.524	F(1,30)=0.416	0.006	F(1,30)=8.621	0.279	F(1,30)=1.215
SOD/GPx ratio	0.363	F(1,29)=0.854	0.149	F(1,29)=2.199	0.714	F(1,29)=0.137

Supplementary table S3: Statistical data from the biochemical analyses performed in the offspring's striatum.

Striatum						
Postnatal day 1						
<i>Parameter</i>	<i>Supplementation effect</i>		<i>Sex effect</i>		<i>Interaction</i>	
	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.007	F(1,36)=8.249	<0.001	F(1,36)=41.348	0.058	F(1,36)=3.846
Superoxide dismutase activity	0.340	F(1,36)=0.340	0.668	F(1,36)=0.187	0.839	F(1,36)=0.042
Glutathione peroxidase activity	0.092	F(1,36)=2.989	0.187	F(1,36)=1.813	0.704	F(1,36)=0.146
Catalase activity	0.221	F(1,36)=1.554	0.444	F(1,36)=0.600	0.775	F(1,36)=0.083

Glyoxalase activity	0.988	F(1,36)=0.000	0.885	F(1,36)=0.021	0.798	F(1,36)=0.066
Reduced glutathione content	0.345	F(1,31)=0.918	0.745	F(1,31)=0.107	0.724	F(1,31)=0.127
SOD/GPx ratio	0.921	F(1,36)=0.010	0.272	F(1,36)=1.244	0.938	F(1,36)=0.006
<i>Postnatal day 7</i>						
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.214	F(1,32)=1.609	0.003	F(1,32)=10.552	p=0.008	F(1,32)=7.865
Superoxide dismutase activity	0.326	F(1,35)=0.991	0.002	F(1,35)=10.962	0.079	F(1,35)=3.275
Glutathione peroxidase activity	0.003	F(1,35)=10.199	0.347	F(1,35)=0.347	0.595	F(1,35)=0.288
Catalase activity	0.272	F(1,36)=1.242	0.937	F(1,36)=0.006	0.049	F(1,36)=4.146
Glyoxalase activity	0.033	F(1,35)=16.435	<0.001	F(1,35)=16.435	0.020	F(1,35)=5.940
Reduced glutathione content	0.062	F(1,29)=14.844	0.798	F(1,29)=0.067	0.839	F(1,29)=0.042
SOD/GPx ratio	0.001	F(1,33)=14.746	0.057	F(1,33)=3.898	0.115	F(1,33)=2.626
<i>Postnatal day 21</i>						
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.623	F(1,34)=0.246	0.113	F(1,34)=2.652	0.093	F(1,34)=0.006

Superoxide dismutase activity	0.981	F(1,28)=0.001	0.742	F(1,28)=0.111	0.235	F(1,28)=1.473
Glutathione peroxidase activity	0.112	F(1,31)=2.669	0.436	F(1,31)=0.624	0.944	F(1,31)=0.005
Catalase activity	0.344	F(1,31)=0.923	0.321	F(1,31)=1.015	0.093	F(1,31)=3.006
Glyoxalase activity	0.831	F(1,34)=0.046	0.907	F(1,34)=0.014	0.591	F(1,34)=0.295
Reduced glutathione content	0.042	F(1,34)=4.448	0.222	F(1,34)=1.550	0.496	F(1,34)=0.473
SOD/GPx ratio	0.255	F(1,23)=1.361	0.956	F(1,23)=0.003	0.175	F(1,23)=1.958

Supplementary table S4: Statistical data from the biochemical analyses performed in the offspring's cerebellum.

Cerebellum						
Postnatal day 1						
<i>Parameter</i>	<i>Supplementation effect</i>		<i>Sex effect</i>		<i>Interaction</i>	
	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>	<i>p value</i>	<i>Statistical data</i>
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.332	F(1,40)=0.963	0.641	F(1,40)=0.221	0.967	F(1,40)=0.002
Superoxide dismutase activity	0.282	F(1,36)=1.195	<0.001	F(1,36)=15.604	0.799	F(1,36)=0.066
Glutathione peroxidase activity	0.152	F(1,43)=2.127	0.004	F(1,43)=9.085	0.792	F(1,43)=0.070
Catalase activity	0.838	F(1,39)=0.042	<0.001	F(1,39)=18.112	0.631	F(1,39)=0.234

Glyoxalase activity	0.630	F(1,36)=0.236	0.521	F(1,36)=0.421	0.414	F(1,36)=0.683
Reduced glutathione content	0.263	F(1,34)=1.297	0.003	F(1,34)=10.543	0.263	F(1,34)=1.297
SOD/GPx ratio	0.545	F(1,33)=0.373	<0.001	F(1,33)=30.743	0.338	F(1,33)=0.946
<i>Postnatal day 7</i>						
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.003	F(1,36)=10.109	<0.001	F(1,36)=196.026	0.021	F(1,36)=5.848
Superoxide dismutase activity	0.001	F(1,36)=13.953	<0.001	F(1,36)=24.983	0.470	F(1,36)=0.533
Glutathione peroxidase activity	0.012	F(1,36)=6.941	<0.001	F(1,36)=30.964	0.485	F(1,36)=33.507
Catalase activity	0.420	F(1,34)=0.667	0.243	F(1,34)=1.409	0.476	F(1,34)=0.518
Glyoxalase activity	0.015	F(1,36)=6.595	0.776	F(1,36)=0.082	0.494	F(1,36)=0.477
Reduced glutathione content	0.061	F(1,36)=3.751	0.002	F(1,36)=10.597	0.183	F(1,36)=1.847
SOD/GPx ratio	0.109	F(1,33)=2.717	<0.001	F(1,33)=119.267	0.335	F(1,33)=0.958
<i>Postnatal day 21</i>						
2',7'-dichlorofluorescein oxidation	0.697	F(1,28)=0.155	0.022	F(1,28)=5.892	0.590	F(1,28)=0.297

Superoxide dismutase activity	0.090	F(1,28)=3.092	0.653	F(1,28)=0.206	0.035	F(1,28)=4.921
Glutathione peroxidase activity	0.637	F(1,28)=0.228	0.006	F(1,28)=8.785	0.083	F(1,28)=3.227
Catalase activity	0.063	F(1,28)=3.763	0.763	F(1,28)=0.092	0.324	F(1,28)=1.010
Glyoxalase activity	0.016	F(1,28)=6.559	0.004	F(1,28)=9.643	0.031	F(1,28)=5.163
Reduced glutathione content	0.783	F(1,27)=0.077	0.004	F(1,27)=10.187	0.298	F(1,27)=1.127
SOD/GPx ratio	0.187	F(1,27)=1.837	0.006	F(1,27)=8.714	0.889	F(1,27)=0.020

Capítulo II

Título: Chapter 47 - Maternal naringenin supplementation during pregnancy disrupts the redox status in the developing rats' brain.

Formato de publicação: Capítulo de livro.

Título do livro: Treatments, Nutraceuticals, Supplements, and Herbal Medicine in Neurological Disorders.

Editora: Elsevier.

Status: Submetido e aceito para publicação.

Capítulo III

Título: Late pregnancy maternal naringin supplementation reduces mitochondrial fission in the cerebellum of Wistar rat offspring: role of sirtuin 3 as a possible mechanism mediating polyphenol metabolic programming.

Formato de publicação: Artigo científico.

Status: Submetido.

Periódico: Journal of Nutritional Biochemistry.

DISCUSSÃO

A suplementação com naringina vem sendo estudada como uma estratégia terapêutica promissora no manejo de doenças metabólicas e na melhora da função cognitiva em modelos experimentais e estudos clínicos (CHEN et al., 2016). Se por um lado o grande volume de evidências demonstra que a suplementação com polifenóis é capaz de levar a diversos benefícios à saúde e por isso induzir um alto consumo de suplementos ricos em polifenóis pela população, por outro lado ainda existe uma necessidade de melhor avaliar a segurança do consumo de altas doses de polifenóis, especialmente se esse consumo se dá durante períodos críticos do desenvolvimento, como a gestação (KLEPSEK et al., 2000; HARNACK; DEROSIER; RYDELL, 2003; NORDENG; HAVNEN, 2004; FORSTER et al., 2006; KIRKPATRICK; PAGE; HAYWARD, 2006; SNYDER et al., 2009; KENNEDY et al., 2013; BARENYS; MASJOSTHUSMANN; FRITSCHKE, 2016). Dessa forma, considerando que a naringina é um polifenol capaz de modular a sinalização redox e a fisiologia mitocondrial, nosso objetivo foi investigar se a suplementação materna com naringina durante a terceira semana de gestação seria capaz de induzir adaptações redox e mitocondriais em diferentes regiões encefálicas da prole. Além disso, também investigamos se a suplementação durante a gestação poderia levar a alterações no perfil bioquímico sérico e no desenvolvimento neuromotor durante a vida pós-natal na prole de ratas Wistar.

Uma vez ingerida, a naringina é rapidamente desglicosilada à naringenina e metabolizada pela microbiota intestinal, o que aumenta a variedade de compostos fenólicos que são originados a partir da naringina (CHEN et al., 2018; BAI et al., 2020). Após absorvidos, os polifenóis podem acumular-se em diversos

tecidos, incluindo a placenta, líquido amniótico, leite materno e em tecidos fetais, como o cérebro em desenvolvimento (ELST et al., 1998; ADLERCREUTZ et al., 1999; TODAKA et al., 2005; BALAKRISHNAN et al., 2010). Até o momento, nenhum estudo avaliou a farmacocinética e distribuição da naringina em ratas prenhas, no entanto, um estudo administrando uma única dose de pueraria (puerarin, 250 mg/kg) para ratas gestantes resultou em acúmulo do polifenol nos tecidos fetais uma vez que a concentração no sangue materno chegou em 2,6 ng/mL no dia gestacional 20 (CAO et al., 2013). De forma semelhante, outro trabalho utilizando ratas Wistar não prenhas reportou um pico plasmático de 12,6 ng/mL de naringina e 1,34 ug/mL de naringenina após administração de uma dose de 42 mg/kg de naringina (BAI et al., 2020). Considerando esses dados, é possível teorizar que ambas naringina e naringenina possam também acumular-se no feto uma vez que as mães sejam expostas a uma dose de 100 mg/kg/dia, como a que utilizamos, e assim atuar diretamente sobre o organismo em desenvolvimento.

Em nosso modelo experimental, a suplementação materna com naringina foi capaz de aumentar os níveis de colesterol total e HDL sem alterar os níveis de LDL da prole ao desmame. De forma semelhante, um extrato rico em polifenóis também causou aumento no HDL da prole 28 dias após o parto, sem afetar os demais parâmetros sanguíneos (HACHUL et al., 2018a). Em trabalho publicado por Caimari *et al.* (2017), os autores demonstraram que a suplementação materna com extrato da semente de uva levou ao aumento do conteúdo de lipídios no plasma materno e expressão de genes relacionados ao metabolismo de lipídios e sinalização da adiponectina nas glândulas mamárias, o que pode explicar, em parte, o aumento do conteúdo de lipídios e colesterol no

plasma da prole (CAIMARI et al., 2017). Apesar disso, tais achados não são um consenso na literatura, visto que diversos trabalhos também reportam que o consumo materno de polifenóis durante a gestação pode modular negativamente os níveis de colesterol ou não causar alterações (CRESCENTI et al., 2015; DEL BAS et al., 2015; CAIMARI et al., 2017; GONÇALVES et al., 2018; HACHUL et al., 2018b; SCHAFFER et al., 2019). Tais discrepâncias podem ser atribuídas as enormes diferenças encontradas em relação à dose, período da suplementação, via de administração e modelo animal utilizado (CRESCENTI et al., 2015; DEL BAS et al., 2015; CAIMARI et al., 2017; GONÇALVES et al., 2018; HACHUL et al., 2018b; SCHAFFER et al., 2019).

Quando analisados os parâmetros neuroquímicos durante o desenvolvimento pós-natal da prole, podemos observar que no dia pós-natal 1 a suplementação com naringina induziu um efeito antioxidante sobre o estado redox no encéfalo da prole, que ocorreu de maneira região-específica. No corpo estriado, a redução no conteúdo total de oxidantes não foi acompanhada por alterações nas enzimas antioxidantes ou antioxidantes não-enzimáticos. No entanto, o hipocampo e o córtex pré-frontal apresentaram alterações na atividade da GPx e no conteúdo de GSH após uma semana de suplementação pré-natal com naringina. O conteúdo total de oxidantes é comumente avaliado pela oxidação do DCFH₂, e juntamente com a atividade das enzimas antioxidantes e os níveis de GSH, pode ser utilizado para avaliar o estado redox de um tecido ou órgão (ERUSLANOV E., 2010). De forma semelhante, trabalhos utilizando animais adultos comumente relatam que a suplementação com naringina modula positivamente a atividade de enzimas antioxidantes e reduz o conteúdo de oxidantes, mesmo que tais efeitos algumas vezes não sejam

observados em conjunto no mesmo modelo ou tecido (KUMAR; KUMAR, 2010; KUMAR; PRAKASH; DOGRA, 2010; CHTOUROU et al., 2015).

No dia pós-natal 7, o hipocampo e o córtex pré-frontal demonstraram um perfil de alterações redox semelhante ao observado no dia pós-natal 1. No córtex pré-frontal a suplementação com naringina reduziu o conteúdo de GSH em ambos os sexos, no entanto, os machos apresentaram aumento na atividade da SOD e GPx, algo já demonstrado em animais adultos de forma dose-dependente (SACHDEVA; KUHAD; CHOPRA, 2014; SACHDEVA; CHOPRA, 2015). De forma semelhante, o conteúdo de GSH também reduziu no hipocampo da prole, no dia pós-natal 7, nascida de ratas suplementadas. Como discutido na introdução do trabalho, a GSH é o principal antioxidante não-enzimático celular e está envolvida nas reações de destoxificação de EROs catalisadas por GPx e GLO1 (ALLAMAN; BÉLANGER; MAGISTRETTI, 2015). Dessa forma, o aumento da atividade dessas duas enzimas pode explicar a redução do conteúdo da GSH aos 7 dias pós-natais (ALLAMAN; BÉLANGER; MAGISTRETTI, 2015; FRANSEN; NARAYANASAMY, 2017).

Apesar de no dia pós-natal 1 as alterações encontradas sugerirem um ambiente antioxidante no encéfalo da prole, o mesmo padrão não se manteve no dia pós-natal 7 no cerebelo e no corpo estriado. Em tais estruturas, a naringina induziu o aumento da atividade da maioria das enzimas antioxidantes nos machos e fêmeas, no entanto, ambas regiões também demonstraram um efeito sexo-dependente em relação ao aumento no conteúdo total de oxidantes. No geral, os trabalhos encontrados na literatura indicam que a suplementação com naringina reduz o conteúdo de EROs e outras espécies reativas quando consumida por animais adultos submetidos a modelos de doenças que afetam o

SNC (KUMAR; PRAKASH; DOGRA, 2010; PRAKASH; SHUR; KUMAR, 2013; CHTOUROU et al., 2015; SACHDEVA; CHOPRA, 2015). No entanto, também é importante considerar que em nosso modelo apenas a naringina foi utilizada como uma intervenção em roedores saudáveis, e tal efeito pró-oxidante dos polifenóis, capazes de induzir aumento de oxidantes, já foi demonstrado *in vitro* e *in vivo* de forma dose-dependente (YEN et al., 2003; MATSUO et al., 2005).

Além disso, outro importante fator é o papel que as diferentes fontes de oxidantes possuem em induzir um aumento das espécies reativas (SIES; JONES, 2020). Como demonstram nossos resultados, é improvável que a mitocôndria esteja contribuindo para o aumento total de oxidantes observado no cerebelo aos 7 dias pós-natais visto que as filhotes fêmeas do grupo naringina apresentaram menores valores de massa e $\Delta\Psi_m$ mitocondrial e sem alterações no conteúdo de $mO_2^{\cdot-}$. Dessa maneira é possível que fontes extra mitocondriais de EROs, como as NOX possam estar estimuladas e sintetizando EROs (SERINO; SALAZAR, 2018). Tal aumento no nível de oxidantes também pode estar relacionado à modulação positiva da atividade das enzimas antioxidantes como um mecanismo compensatório no cerebelo das fêmeas e estriado dos machos no dia pós-natal 7 (SIES et al., 2022).

Já no dia pós-natal 21, nossos dados demonstram que as alterações na sinalização redox encontradas durante o período perinatal em sua maioria são transientes e não persistiram até o desmame. Nessa idade, a maioria das regiões encefálicas apresentou modulações negativas do conteúdo de GSH, GLO1 e da razão SOD/GPx em ambos os sexos, porém, no cerebelo foram encontradas alterações sexo-dependentes onde os machos apresentaram menor atividade da SOD e GLO1. De forma simplificada, um dos mecanismos pelo qual os

polifenois induzem um efeito adaptativo é pela geração de EROs, especialmente o H_2O_2 (ERLANK et al., 2011; KANNER, 2020). Dessa maneira, nossos achados indicam que durante o período de suplementação pré-natal, a naringina pode estar estimulando a produção de H_2O_2 , que pode atuar de duas formas: (1) induzir a ativação do NRF2, levando a expressão gênica de defesas antioxidantes, e (2) estimular a atividade das enzimas antioxidantes (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015; TEBAY et al., 2015; SIES; JONES, 2020). Sendo assim, uma vez que a suplementação não continua no período pós-natal, a produção de peróxido cessa, o que reduz a ativação do NRF2 e das enzimas antioxidantes, o que pode explicar parcialmente o maior número de alterações no período perinatal e seu decaimento até o desmame (Figura 11) (CALABRESE et al., 2020a). Porém, é importante notar que cada região encefálica respondeu diferentemente a suplementação materna com naringina, indicando diferentes níveis de susceptibilidade à mesma intervenção.

DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL

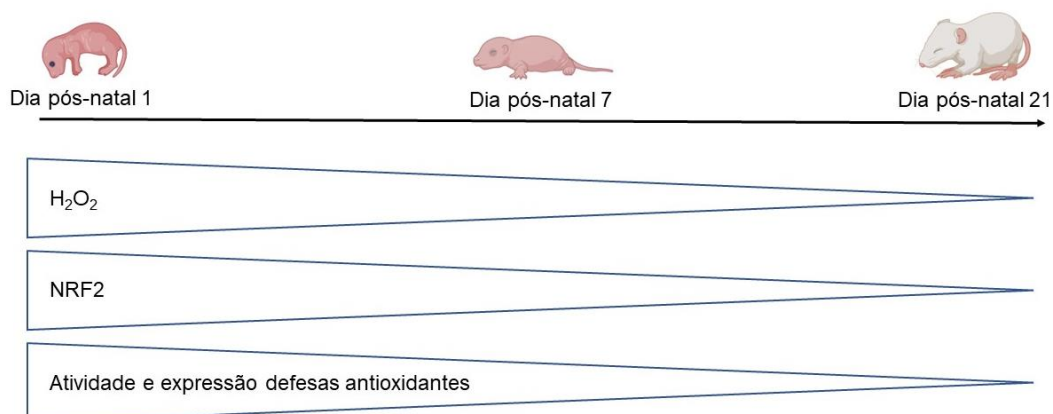


Figura 11: Esquema ilustrando a hipótese de que a naringina é capaz de induzir a ativação do NRF2 e da atividade e expressão das enzimas antioxidantes no encéfalo da prole por um mecanismo dependente de H₂O₂. A presença da naringina no SNC em desenvolvimento pode induzir a síntese de H₂O₂, que consequentemente induz a ativação do NRF2 juntamente com a atividade e expressão das defesas antioxidantes. No entanto, uma vez que a suplementação é descontinuada após o nascimento da prole, a ausência da naringina no SNC da prole leva a uma redução da síntese de H₂O₂ e consequente redução gradual da ativação do NRF2 e das defesas antioxidantes durante o desenvolvimento pós-natal da prole. H₂O₂: peróxido de hidrogênio. NRF2: fator nuclear derivado de eritróide 2. Partes da figura foram criadas utilizando imagens provenientes do BioRender (2022). Acesso em: <https://app.biorender.com>.

Dentre as estruturas analisadas em nosso trabalho, o cerebelo parece ser uma região encefálica especialmente susceptível quando se trata do alto consumo de polifenóis (CHEN et al., 2015). Em modelo utilizando roedores, foi demonstrado que o consumo de extratos de maçã e uva pelos animais resultou em um maior acúmulo de compostos fenólicos no cerebelo quando comparado a outras regiões encefálicas (CHEN et al., 2015). No entanto, os autores não investigaram quais mecanismos poderiam estar atuando para favorecer tal acúmulo. Além disso, por serem altamente lipofílicos, os polifenóis podem ser encontrados em diferentes compartimentos celulares, especialmente nas mitocôndrias (FIORANI et al., 2010).

Consequentemente, uma vez localizados nas mitocôndrias, os polifenóis podem reagir diretamente com as proteínas locais e induzir a respiração e o metabolismo mitocondrial (STEVENS; REVEL; MAIER, 2018). Tais efeitos já foram reportados, onde os polifenóis foram capazes de desacoplar o STEM da produção de ATP por agirem diretamente como um protonóforo, além de induzirem a expressão das proteínas desacopladoras de membrana mitocondrial (UCPs, do inglês *uncoupling proteins*) (QANUNGO et al., 2005; LIM; LIM; WONG, 2009; BLANQUER-ROSSELLÓ et al., 2017; STEVENS; REVEL; MAIER, 2018; DIAO et al., 2019). Além disso, outros dados demonstram que os polifenóis também podem interagir diretamente com as desidrogenases do CK e alguns complexos do STEM e induzir a respiração mitocondrial. Tais efeitos já foram demonstrados com o resveratrol, quercetina, apigeína e genisteína que, em baixas concentrações (~1 µM) estimularam a atividade dos complexos I e III, porém, em concentrações maiores de 5 µM foi observada inibição do complexo I e ATP sintase (ZHENG; RAMIREZ, 2000; GLEDHILL et al., 2007; HERRERIAS et al., 2008; LAGOA et al., 2011; DESQUIRET-DUMAS et al., 2013; MOREIRA et al., 2013; GUEGUEN et al., 2015).

Efeitos muito similares também já foram encontrados em trabalhos anteriores em nosso grupo de pesquisa utilizando a suplementação com 50 mg/kg/dia de naringenina durante a gestação e o cerebelo da prole avaliado durante a vida pós-natal. Em tais trabalhos, os autores observaram uma maior atividade do complexo II, da SDH e do complexo IV, e em trabalho subsequente, foram reportadas a inibição da isocitrato-desidrogenase e α -cetoglutarato-desidrogenase sete dias após o nascimento da prole (AUGUST et al., 2020, 2021). No entanto, é importante ressaltar que as alterações observadas acima

foram encontradas sete dias após o final da suplementação materna com naringenina, o que implica que pouco ou nenhum composto fenólico poderia estar acumulado no cerebelo da prole (AUGUST et al., 2020, 2021).

Sendo assim, é improvável que a estimulação das atividades enzimáticas seja uma consequência da reação direta dos polifenóis com as enzimas mitocondriais. Porém, tal modulação da atividade das enzimas do CK e STEM poderia estar sendo mantida por mecanismos indiretos, como por proteínas sinalizadoras e reguladoras que podem ser moduladas pelos polifenóis (DESQUIRET-DUMAS et al., 2013; NADAL-SERRANO et al., 2013; WANG et al., 2020; ZENG et al., 2020a). Em nosso trabalho a suplementação materna com naringina foi capaz de induzir uma maior massa, $\Delta\Psi_m$ e mO_2^- três semanas após o nascimento, o que indica uma alteração no STEM. Sendo assim, nós teorizamos que o acúmulo de naringina e seus metabólitos no cerebelo fetal durante o período gestacional pode induzir uma estimulação persistente do STEM, que consequentemente ativa mecanismos que estão envolvidos na regulação da biologia mitocondrial e atividade do STEM, e que tais mecanismos podem persistir durante o período pós-natal e regular indiretamente a funcionalidade mitocondrial (CRESCENTI et al., 2015; DEL BAS et al., 2015; CAIMARI et al., 2017).

Dessa forma, esta hipótese foi confirmada pelo fato de a prole nascida de ratas suplementadas com naringina apresentar um maior conteúdo de SIRT3 cerebelar, mesmo 21 após o nascimento. Modelos utilizando roedores adultos já vem demonstrando que a naringina é capaz de aumentar os níveis de SIRT3 via sinalização pela AMPK/PGC1- α /mtTFA, culminando em aumento da biogênese mitocondrial (YU et al., 2019; ZENG et al., 2020a). Apesar de nossos dados não

demonstrarem alterações nos níveis de p-AMPK/AMPK e mtTFA, outro trabalho reportou um mecanismo alternativo de como baixas concentrações de polifenóis podem estimular a atividade do STEM e respiração mitocondrial independentemente da ativação da AMPK e biogênese mitocondrial (DESQUIRET-DUMAS et al., 2013).

Neste trabalho, os autores inicialmente reportaram que baixas doses de resveratrol foram capazes de estimular a atividade do complexo I do STEM, que conseqüentemente levou ao aumento da razão NAD^+/NADH e induziu a ativação e expressão da SIRT3 *in vitro* e *in vivo* (DESQUIRET-DUMAS et al., 2013). Além disso, também foram relatados maior ativação do CK e da β -oxidação induzidas pelo resveratrol de maneira dependente da SIRT3, levando a uma maior oxidação de ácidos graxos e maior metabolismo mitocondrial (DESQUIRET-DUMAS et al., 2013). Assim, além de fornecer uma via independente da ativação da AMPK/biogênese mitocondrial, o mecanismo de ação do resveratrol via complexo I/SIRT3 também fornece uma importante informação sobre como baixas quantidades de polifenóis podem estimular o metabolismo mitocondrial, o que é especialmente relevante no contexto da suplementação com polifenóis durante a gestação, visto que, como discutido anteriormente, apenas pequenas concentrações de polifenóis/metabólitos alcançam o cérebro fetal durante o desenvolvimento.

Além de regular a ativação do CK e do STEM, a SIRT3 também está relacionada com a regulação da dinâmica mitocondrial de acordo com as demandas metabólicas da célula (SIDOROVA-DARMOS; SOMMER; EUBANKS, 2018). Dados da literatura demonstram que a SIRT3 pode regular positivamente ambas MFN1, MFN2 e OPA1 para preservar e induzir a fusão mitocondrial em

condições de estresse metabólico brando, enquanto que a deleção da SIRT3 foi associada com a redução das proteínas de fusão mitocondrial, porém, sem afetar de forma significativa os níveis da proteína de fissão DRP1 (SAMANT et al., 2014; TYAGI et al., 2018; WU et al., 2020). Dessa forma, considerando que os polifenóis são estressores brandos, nossos dados mostram que a SIRT3 pode mediar as adaptações mitocondriais observadas no cerebelo da prole (DAVINELLI et al., 2020). A suplementação com polifenóis também é bastante relacionada com a preservação da dinâmica mitocondrial em modelos de doenças por induzir a expressão das MFNs e OPA1 pela via PGC1 α /mtTFA e indução da biogênese mitocondrial (LIU et al., 2015; PARRADO-FERNÁNDEZ et al., 2016; PALOMERA-AVALOS et al., 2017; ROBB et al., 2017). Sendo assim, mesmo que não tenhamos observado alterações no conteúdo da MFN1, ainda existem outras proteínas que estão envolvidas no processo de fusão mitocondrial e podem estar associadas com o aumento da massa mitocondrial que observamos no cerebelo da prole nascida de ratas suplementadas com naringina.

A AKT também foi associada com a regulação das proteínas de dinâmica mitocondrial (KIM et al., 2016; YANG et al., 2017; TAO et al., 2018; CHEN et al., 2020; ZENG et al., 2020b). A ativação completa da AKT pela fosforilação na Ser473 está relacionada com a ativação ou inibição da proteína DRP1 em diferentes modelos experimentais, no entanto, como a AKT possui diversas proteínas alvo, seus efeitos sobre o DRP1 e conseqüentemente sobre a dinâmica mitocondrial são bastante contexto-dependentes (KIM et al., 2016; YANG et al., 2017; TAO et al., 2018; CHEN et al., 2020; ZENG et al., 2020b). Especificamente, o aumento da p-AKT (Ser473) foi associado com maiores

níveis de fosforilação e ativação do DRP1 (Ser616), também demonstrando que a AKT pode regular a fosforilação do DRP1 sem proteínas intermediárias, diretamente induzindo a fissão mitocondrial (KIM et al., 2016). De forma semelhante, nossos dados corroboram com tal evidência, no entanto, sugerindo que a redução da p-AKT (Ser473) está relacionada com a redução dos níveis DRP1. Outros trabalhos também já demonstram que as sirtuínas podem regular a fosforilação da AKT, adicionando assim, um mecanismo extra de como a interação entre essas duas proteínas influencia a regulação da dinâmica mitocondrial (SUNDARESAN et al., 2009; XIONG et al., 2017; LEE et al., 2022).

Além disso, é importante ressaltar o papel central que o metabolismo e dinâmica mitocondriais possuem em regular o processo de diferenciação e auto renovação das NSC, portanto, alterações na função e dinâmica mitocondrial durante a neurogênese, podem induzir mudanças neste processo (FOLMES et al., 2011; TAKUBO et al., 2013; KHACHO et al., 2016, 2017). Durante a neurogênese fetal, tanto a deleção das mitofusinas quanto do DRP1 e o consequente desequilíbrio da dinâmica mitocondrial foram capazes de induzir defeitos nos processos de diferenciação, formação de sinapses, alterações no neurodesenvolvimento e até mesmo morte pré-termo, demonstrando que tais mudanças no metabolismo e morfologia mitocondriais são, de fato, reguladores do processo de diferenciação, auto renovação e neurogênese (ISHIHARA et al., 2009; WAKABAYASHI et al., 2009; KHACHO et al., 2016, 2017).

Alterações na expressão e sinalização de outras proteínas como a SIRT3 e AKT também estão associadas com defeitos na neurogênese adulta e embrionária (OTAEGI et al., 2006; LE BELLE et al., 2011; WANG et al., 2017). Especificamente durante a neurogênese fetal, a ativação da AKT é necessária

para a diferenciação das NSCs em neurônios, e sua deleção específica no encéfalo e consequente alteração da sua sinalização durante o período fetal estão fortemente associados com doenças do neurodesenvolvimento, malformações e morte (OTAEGI et al., 2006; LE BELLE et al., 2011; WANG et al., 2017). Outros trabalhos analisando o papel da AKT durante a neurogênese adulta mostram que em modelos de doenças do SNC a ativação da AKT é reduzida, o que prejudica a neurogênese e a função cognitiva, porém, a suplementação com polifenóis como a naringina e resveratrol é capaz de induzir uma maior ativação da proteína e estimular a neurogênese (TORRES-PÉREZ et al., 2015; WANG et al., 2015; OKUYAMA et al., 2018; YANG et al., 2020). De forma semelhante, a indução da expressão da SIRT3 também é capaz de resgatar a neurogênese adulta em modelos de doenças do SNC, enquanto que a deleção dessa mesma proteína exacerba a disfunção mitocondrial comumente observada nesses casos (JIANG et al., 2017; SANTOS et al., 2021).

Além de elucidar o papel que tais proteínas possuem durante a neurogênese, os trabalhos discutidos acima também demonstram que substâncias que modificam os conteúdos e expressão das proteínas DRP1, AKT e SIRT3, como os polifenóis, podem induzir alterações no metabolismo e morfologia mitocondriais e consequentemente gerar alterações no processo de diferenciação das NSCs em neurônios. Como nossos resultados demonstraram que a suplementação materna com naringina alterou a dinâmica mitocondrial via indução da SIRT3 e redução da p-AKT, nós pensamos que tais alterações poderiam alterar a dinâmica de diferenciação das NSCs e potencialmente induzir alterações motoras na prole em desenvolvimento. Adicionando-se a tal hipótese, outro trabalho *in vitro* já demonstrou que os polifenóis podem gerar distúrbios na

migração em NPCs de roedores e humanos (BARENYS et al., 2017). Apesar de tal preocupação, a análise do comportamento motor da prole durante o período perinatal não detectou alterações, sugerindo que não ocorreram interferências no neurodesenvolvimento, ou que pelo menos tais alterações não se refletiram em perdas de função e comportamento. No entanto, é importante ressaltar que ainda assim é possível que alterações neurocomportamentais mais sutis tenham ocorrido, e que não tenham sido detectadas pela bateria de testes utilizada. Dessa forma, ainda é necessário elucidar se, e como as alterações mitocondriais induzidas pela naringina podem alterar a dinâmica de diferenciação das NSCs e a neurogênese e neurodesenvolvimento fetal.

De forma geral, os dados encontrados em nosso trabalho nos mostram que a suplementação materna com naringina durante a terceira semana de gestação induziu alterações na dinâmica mitocondrial e em algumas vias de sinalização relacionadas. A prole nascida das ratas suplementadas apresentou maior massa e $\Delta\Psi_m$ acompanhados de maiores níveis de mO_2^* , que foram associados à redução da proteína DRP1, sugerindo uma perturbação da dinâmica mitocondrial em favorecimento da fusão, mesmo que não tenhamos observado um aumento no conteúdo de MFN1. Tais efeitos podem ser mediados pelo aumento da SIRT3 e redução da ativação da proteína AKT, que estão diretamente envolvidas na regulação do metabolismo e morfologia mitocondrial (Figura 12) (OTAEGI et al., 2006; LE BELLE et al., 2011; WANG et al., 2017).

Além disso, mesmo que não tenhamos observado aumento ou alteração na biogênese mitocondrial mediada pela sinalização AMPK/SIRT1/mtTFA, outros dados já demonstraram que baixas doses de polifenóis podem agir localmente na mitocôndria e induzir a respiração e metabolismo mitocondriais

sem afetar a biogênese (DESQUIRET-DUMAS et al., 2013). O fato de baixas doses poderem estimular tal efeito é ainda mais relevante no contexto da suplementação com polifenóis durante a gestação, visto que apenas baixas concentrações de polifenóis atravessam a barreira placentária e se acumulam nos tecidos fetais (AROLA-ARNAL et al., 2013). Apesar dessa hipótese ainda necessitar confirmação no caso da suplementação com naringina, é importante ressaltar que trabalhos nesse contexto de gestação são extremamente complexos, e fatores como a dificuldade de quantificar a concentração e quais metabólitos específicos da naringina alcançam o cérebro fetal ainda necessitam ser profundamente explorados. Ainda assim, nosso trabalho oferece pela primeira vez, um mecanismo de ação de como a suplementação materna com polifenóis durante a terceira semana de gestação pode programar o metabolismo e dinâmica mitocondrial no cerebelo da prole de ratas Wistar mesmo durante a vida pós-natal.

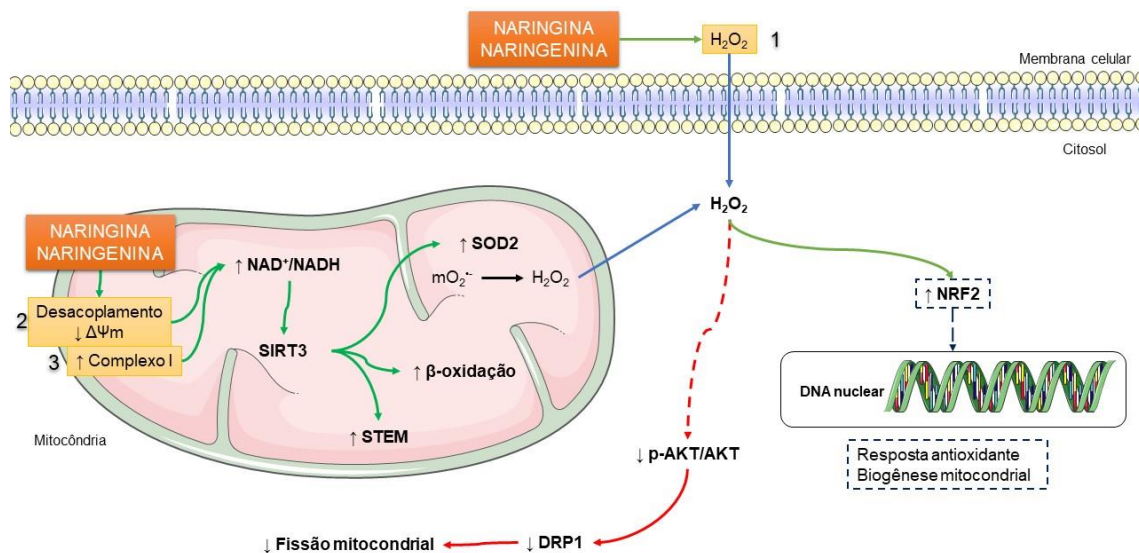


Figura 12: Figura ilustrando os possíveis mecanismos de ação pelos quais a naringina induziu adaptações a longo prazo no metabolismo, morfologia e sinalização mitocondrial e redox quando consumida em alta dose durante a terceira semana de gestação. A naringina (em laranja) pode atuar de três maneiras diferentes: (1) induzir a síntese de H_2O_2 extracelular, (2) intercalar-se na membrana mitocondrial interna e levar à desacoplamento da OXPHOS da síntese de ATP e (3) induzir aumento da atividade do complexo I. O H_2O_2 extracelular pode ser transportado para o citosol pelas aquaporinas, onde pode levar à ativação do NRF2 e inativação da fosforilação da AKT conforme a concentração de H_2O_2 . Na mitocôndria, o desacoplamento leva à dissipação leve do $\Delta\Psi_m$ e juntamente com o aumento da atividade do complexo I, induzem o aumento da razão $NAD^+/NADH$, consequentemente ativando a SIRT3. Uma vez ativada, a SIRT3 atua localmente na mitocôndria, desacetilando e ativando a SOD2, os complexos do STEM e induzindo a oxidação de lipídios por ativação do sistema de transporte de elétrons mitocondrial. A cor das setas determina o efeito da proteína ou molécula: ativa (verde), inibe (vermelho) ou efeito de inibição sobre a proteína alvo é condicionado à concentração da molécula sinalizadora (linha tracejada em vermelho). As linhas azuis representam o transporte do H_2O_2 através das membranas. $\Delta\Psi_m$: potencial de membrana mitocondrial. AKT: proteína-quinase B. DRP1: *dynamain related protein 1*. H_2O_2 : peróxido de hidrogênio. $mO_2^{\cdot-}$: superóxido mitocondrial. NAD^+ : dinucleotídeo de nicotinamida-adenina oxidado. $NADH$: dinucleotídeo de nicotinamida-adenina reduzido. NRF2: fator nuclear derivado de eritróide 2. p-AKT: proteína-quinase B fosforilada. SIRT3: sirtuína 3. SOD2: superóxido-dismutase 2. STEM: sistema de transporte de elétrons mitocondrial. Partes da figura foram elaboradas utilizando o Servier Medical Art (<https://smart.servier.com/>). Servier é licenciado sob a Creative Commons Attribution 3.0 Unported License (<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

REFERÊNCIAS

ADLERCREUTZ, H. et al. Maternal and Neonatal Phytoestrogens in Japanese Women during Birth. *American journal of obstetrics and gynecology*, v. 180, n. 3 Pt 1, p. 737–743, mar. 1999. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9378\(99\)70281-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9378(99)70281-4)>.

AEBI, H. [13] Catalase in Vitro. *Methods in enzymology*, v. 105, n. C, p. 121–126, 1984. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)>.

AHSAN, A. U. et al. Naringenin Upregulates AMPK-Mediated Autophagy to Rescue Neuronal Cells From β -Amyloid (1-42) Evoked Neurotoxicity. *Molecular neurobiology*, v. 57, n. 8, p. 3589–3602, ago. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12035-020-01969-4>>.

AJAREM, J. et al. Neurobehavioral changes in mice offspring exposed to green tea during fetal and early postnatal development. *Behavioral and brain functions: BBF*, v. 13, n. 1, p. 1–14, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12993-017-0128-1>>.

ALAM, M. A. et al. Effect of Citrus Flavonoids, Naringin and Naringenin, on Metabolic Syndrome and Their Mechanisms of Action. *Advances in nutrition*, v. 5, n. 4, p. 404–417, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3945/an.113.005603>>.

ALBERCA, R. W. et al. Perspective: The Potential Effects of Naringenin in COVID-19. *Frontiers in immunology*, v. 11, p. 570919, 25 set. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.570919>>.

ALGHADIR, A. H.; IQBAL, A.; IQBAL, Z. A. Attitude, Beliefs, and Use of Herbal Remedies by Patients in the Riyadh Region of Saudi Arabia. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, v. 10, n. 5, 13 maio 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/healthcare10050907>>.

ALLAMAN, I.; BÉLANGER, M.; MAGISTRETTI, P. J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis. *Frontiers in neuroscience*, v. 9, n. FEB, p. 1–12, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fnins.2015.00023>>.

ALMEIDA, A. S.; VIEIRA, H. L. A. Role of Cell Metabolism and Mitochondrial Function During Adult Neurogenesis. *Neurochemical research*, v. 42, n. 6, p. 1787–1794, jun. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11064-016-2150-3>>.

APTEKMANN, N. P.; CESAR, T. B. Long-term orange juice consumption is associated with low LDL-cholesterol and apolipoprotein B in normal and moderately hypercholesterolemic subjects. *Lipids in health and disease*, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1476-511X-12-119>>.

AROLA-ARNAL, A. et al. Distribution of grape seed flavanols and their metabolites in pregnant rats and their fetuses. *Molecular nutrition & food research*, v. 57, n. 10, p. 1741–1752, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201300032>>.

AUGUST, P. M. et al. Tricarboxylic Acid Cycle Dehydrogenases Inhibition by Naringenin: Experimental and Molecular Modelling Evidence. *The British journal of nutrition*, v. 123, n. 10, p. 1117–1126, 28 maio 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114520000549>>.

AUGUST, P. M. et al. Maternal polyphenol intake impairs cerebellar redox homeostasis in newborn rats. *Nutritional neuroscience*, v. 0, p. 1–11, 2 jun. 2021.

Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1028415X.2021.1933330>>.

BAI, Y. et al. Pharmacokinetics and Metabolism of Naringin and Active Metabolite Naringenin in Rats, Dogs, Humans, and the Differences Between Species.

Frontiers in pharmacology, v. 11, n. March, p. 1–16, 27 mar. 2020. Disponível

em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2020.00364/full>>.

BALAKRISHNAN, B. et al. Transplacental Transfer and Biotransformation of Genistein in Human Placenta. *Placenta*, v. 31, n. 6, p. 506–511, jun. 2010.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2010.03.007>>.

BARENYS, M. et al. Epigallocatechin gallate (EGCG) inhibits adhesion and migration of neural progenitor cells in vitro. *Archives of toxicology*, v. 91, n. 2, p.

827–837, 26 fev. 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00204-016-1709-8>>.

BARENYS, M.; MASJOSTHUSMANN, S.; FRITSCHE, E. Is Intake of Flavonoid-Based Food Supplements During Pregnancy Safe for the Developing Child? A

Literature Review. *Current drug targets*, v. 18, n. 2, p. 196–231, 29 dez. 2016.

Disponível em:

<<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-4501&volume=18&issue=2&spage=196>>.

BARKER, D. J.; OSMOND, C. Infant Mortality, Childhood Nutrition, and Ischaemic Heart Disease in England and Wales. *The Lancet*, v. 1, n. 8489, p.

1077–1081, 10 maio 1986. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(86\)91340-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(86)91340-1)>.

BAYER, S. A. et al. Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology*, v. 14, n. 1, p. 83–144, 1993. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8361683>>.

BEDARD, K.; KRAUSE, K.-H. The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology. *Physiological reviews*, v. 87, n. 1, p. 245–313, jan. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00044.2005>>.

BHASKAR, S. et al. Mitochondrial Superoxide Dismutase Specifies Early Neural Commitment by Modulating Mitochondrial Dynamics. *iScience*, v. 23, n. 10, p. 101564, 23 out. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.isci.2020.101564>>.

BIENERT, G. P.; CHAUMONT, F. Aquaporin-Facilitated Transmembrane Diffusion of Hydrogen Peroxide. *Biochimica et biophysica acta*, v. 1840, n. 5, p. 1596–1604, maio 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.09.017>>.

BJORNSSON, C. S. et al. It Takes a Village: Constructing the Neurogenic Niche. *Developmental cell*, v. 32, n. 4, p. 435–446, 23 fev. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2015.01.010>>.

BLANQUER-ROSSELLÓ, M. del M. et al. Resveratrol induces mitochondrial respiration and apoptosis in SW620 colon cancer cells. *Biochimica et Biophysica*

Acta (BBA) - General Subjects, v. 1861, n. 2, p. 431–440, 1 fev. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030441651630383X>>.

BOULTON, D. P.; CAINO, M. C. Mitochondrial Fission and Fusion in Tumor Progression to Metastasis. *Frontiers in cell and developmental biology*, v. 10, p. 849962, 9 mar. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2022.849962>>.

BUBOLS, G. B. et al. Nitric oxide and reactive species are modulated in the polyphenol-induced ductus arteriosus constriction in pregnant sheep. *Prenatal diagnosis*, v. 34, n. 13, p. 1268–1276, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/pd.4463>>.

CAIMARI, A. et al. Maternal intake of grape seed procyanidins during lactation induces insulin resistance and an adiponectin resistance-like phenotype in rat offspring. *Scientific reports*, v. 7, n. 1, p. 12573, 3 dez. 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-017-12597-9>>.

CALABRESE, E. J. et al. Does Green Tea Induce Hormesis? *Dose-response: a publication of International Hormesis Society*, v. 18, n. 3, p. 1559325820936170, jul. 2020a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1177/1559325820936170>>.

CALABRESE, E. J. et al. Hormesis: A Potential Strategic Approach to the Treatment of Neurodegenerative Disease. *International review of neurobiology*, v. 155, p. 271–301, 11 ago. 2020b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/bs.irn.2020.03.024>>.

CAO, L. et al. Pharmacokinetics of puerarin in pregnant rats at different stages of gestation after oral administration. *Fitoterapia*, v. 86, p. 202–207, abr. 2013.

Disponível

em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0367326X13000610>>.

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide Metabolism in Mammalian Organs. *Physiological reviews*, v. 59, n. 3, p. 527–605, jul. 1979. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1152/physrev.1979.59.3.527>>.

CHEN, L. et al. Astragaloside IV Derivative (LS-102) Alleviated Myocardial Ischemia Reperfusion Injury by Inhibiting Drp1Ser616 Phosphorylation-Mediated Mitochondrial Fission. *Frontiers in pharmacology*, v. 11, p. 1083, 17 set. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2020.01083>>.

CHEN, R. et al. Therapeutic potential of naringin: an overview. *Pharmaceutical biology*, v. 54, n. 12, p. 3203–3210, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2016.1216131>>.

CHEN, T. et al. Identification of naringin metabolites mediated by human intestinal microbes with stable isotope-labeling method and UFLC-Q-TOF-MS/MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 161, p. 262–272, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.08.039>>.

CHEN, T. Y. et al. Plasma bioavailability and regional brain distribution of polyphenols from apple/grape seed and bilberry extracts in a young swine model. *Molecular nutrition & food research*, v. 59, n. 12, p. 2432–2447, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201500224>>.

CHODARI, L. et al. Targeting Mitochondrial Biogenesis with Polyphenol Compounds. *Oxidative medicine and cellular longevity*, v. 2021, p. 4946711, 12 jul. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2021/4946711>>.

CHTOUROU, Y. et al. Protective Role of Naringin against Cisplatin Induced Oxidative Stress, Inflammatory Response and Apoptosis in Rat Striatum via Suppressing ROS-Mediated NF-KB and P53 Signaling Pathways. *Chemico-biological interactions*, v. 239, p. 76–86, 5 set. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2015.06.036>>.

COELHO, P. et al. Mitochondrial Function and Dynamics in Neural Stem Cells and Neurogenesis: Implications for Neurodegenerative Diseases. *Ageing research reviews*, n. 101667, p. 101667, 14 jun. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35714855>>.

CRESCENTI, A. et al. Grape seed procyanidins administered at physiological doses to rats during pregnancy and lactation promote lipid oxidation and up-regulate AMPK in the muscle of male offspring in adulthood. *The Journal of nutritional biochemistry*, v. 26, n. 9, p. 912–920, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.03.003>>.

DANEMAN, R. et al. Pericytes Are Required for Blood-Brain Barrier Integrity during Embryogenesis. *Nature*, v. 468, n. 7323, p. 562–566, 25 nov. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature09513>>.

D'ANGELO, S. et al. Sirt1 Activity in the Brain: Simultaneous Effects on Energy Homeostasis and Reproduction. *International journal of environmental research and public health*, v. 18, n. 3, 30 jan. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/ijerph18031243>>.

DARBY, J. R. T. et al. Systematic review: Impact of resveratrol exposure during pregnancy on maternal and fetal outcomes in animal models of human pregnancy

complications—Are we ready for the clinic? *Pharmacological research: the official journal of the Italian Pharmacological Society*, v. 144, n. March, p. 264–278, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.04.020>>.

DAVINELLI, S. et al. Polyphenols as Caloric Restriction Mimetics Regulating Mitochondrial Biogenesis and Mitophagy. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, v. 31, n. 7, p. 536–550, jul. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2020.02.011>>.

DE SANTIS, S. et al. Polyphenol Enriched Diet Administration During Pregnancy and Lactation Prevents Dysbiosis in Ulcerative Colitis Predisposed Littermates. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, v. 11, p. 622327, 9 jun. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2021.622327>>.

DECKMANN, I. et al. Resveratrol Prevents Brain Edema, Blood-Brain Barrier Permeability, and Altered Aquaporin Profile in Autism Animal Model. *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, v. 81, n. 7, p. 579–604, nov. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jdn.10137>>.

DEL BAS, J. M. et al. Intake of grape procyanidins during gestation and lactation impairs reverse cholesterol transport and increases atherogenic risk indexes in adult offspring. *The Journal of nutritional biochemistry*, v. 26, n. 12, p. 1670–1677, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.08.015>>.

DESQUIRET-DUMAS, V. et al. Resveratrol Induces a Mitochondrial Complex I-Dependent Increase in NADH Oxidation Responsible for Sirtuin Activation in

Liver Cells. *The Journal of biological chemistry*, v. 288, n. 51, p. 36662–36675, 20 dez. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M113.466490>>.

DIAO, J. et al. Effects of Resveratrol on Regulation on UCP2 and Cardiac Function in Diabetic Rats. *Journal of physiology and biochemistry*, v. 75, n. 1, p. 39–51, fev. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s13105-018-0648-7>>.

DOI, M.; USUI, N.; SHIMADA, S. Prenatal Environment and Neurodevelopmental Disorders. *Frontiers in endocrinology*, v. 13, p. 860110, 15 mar. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2022.860110>>.

DOW, C. A. et al. The effects of daily consumption of grapefruit on body weight, lipids, and blood pressure in healthy, overweight adults. *Metabolism: clinical and experimental*, v. 61, n. 7, p. 1026–1035, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2011.12.004>>.

DRÖGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological reviews*, v. 82, n. 1, p. 47–95, 1 jan. 2002. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00018.2001>>.

EKOR, M. The Growing Use of Herbal Medicines: Issues Relating to Adverse Reactions and Challenges in Monitoring Safety. *Frontiers in pharmacology*, v. 4, p. 177, 10 jan. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2013.00177>>.

ELST, J. P. S.-V. D. et al. Synthetic flavonoids cross the placenta in the rat and are found in fetal brain. *American Journal of Physiology-Endocrinology and*

Metabolism, v. 274, n. 2, p. E253–E256, 1 fev. 1998. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.1998.274.2.E253>>.

ERLANK, H. et al. Polyphenols Activate Nrf2 in Astrocytes via H₂O₂, Semiquinones, and Quinones. *Free radical biology & medicine*, v. 51, n. 12, p. 2319–2327, 15 dez. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.033>>.

ERUSLANOV E., K. *Advanced Protocols in Oxidative Stress II*. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. v. 5946 p.

FIORANI, M. et al. Mitochondria Accumulate Large Amounts of Quercetin: Prevention of Mitochondrial Damage and Release upon Oxidation of the Extramitochondrial Fraction of the Flavonoid. *The Journal of nutritional biochemistry*, v. 21, n. 5, p. 397–404, maio 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.01.014>>.

FITZGERALD, E.; HOR, K.; DRAKE, A. J. Maternal influences on fetal brain development: The role of nutrition, infection and stress, and the potential for intergenerational consequences. *Early human development*, v. 150, p. 105190, 1 nov. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378378220306514>>.

FOLMES, C. D. L. et al. Somatic Oxidative Bioenergetics Transitions into Pluripotency-Dependent Glycolysis to Facilitate Nuclear Reprogramming. *Cell metabolism*, v. 14, n. 2, p. 264–271, 3 ago. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2011.06.011>>.

FONTES-DUTRA, M. et al. Resveratrol Prevents Cellular and Behavioral Sensory Alterations in the Animal Model of Autism Induced by Valproic Acid. *Frontiers in synaptic neuroscience*, v. 10, p. 9, 22 maio 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fnsyn.2018.00009>>.

FORMAN, H. J.; DAVIES, K. J. A.; URSINI, F. How Do Nutritional Antioxidants Really Work: Nucleophilic Tone and Para-Hormesis versus Free Radical Scavenging in Vivo. *Free radical biology & medicine*, v. 66, p. 24–35, jan. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.045>>.

FORSTER, D. A. et al. Herbal medicine use during pregnancy in a group of Australian women. *BMC pregnancy and childbirth*, v. 6, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2393-6-21>>.

FRANCO, R.; NAVARRO, G.; MARTÍNEZ-PINILLA, E. Hormetic and Mitochondria-Related Mechanisms of Antioxidant Action of Phytochemicals. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 8, n. 9, 4 set. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/antiox8090373>>.

FRANSEN, J.; NARAYANASAMY, P. Flavonoid Enhances the Glyoxalase Pathway in Cerebellar Neurons to Retain Cellular Functions. *Scientific reports*, v. 7, n. 1, p. 5126, 11 dez. 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-017-05287-z>>.

FUSCO, S. et al. A CREB-Sirt1-Hes1 Circuitry Mediates Neural Stem Cell Response to Glucose Availability. *Cell reports*, v. 14, n. 5, p. 1195–1205, 9 fev. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2015.12.092>>.

GARCIA, D.; SHAW, R. J. AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Molecular cell*, v. 66, n. 6, p. 789–800, 15 jun. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.032>>.

GARCÍA-MANTRANA, I. et al. Distinct Maternal Microbiota Clusters Are Associated with Diet during Pregnancy: Impact on Neonatal Microbiota and Infant Growth during the First 18 Months of Life. *Gut microbes*, v. 11, n. 4, p. 962–978, 3 jul. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/19490976.2020.1730294>>.

GIEDD, J. N. et al. Brain Development during Childhood and Adolescence: A Longitudinal MRI Study. *Nature neuroscience*, v. 2, n. 10, p. 861–863, out. 1999. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/13158>>.

GLEDHILL, J. R. et al. Mechanism of Inhibition of Bovine F1-ATPase by Resveratrol and Related Polyphenols. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 104, n. 34, p. 13632–13637, 21 ago. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0706290104>>.

GONÇALVES, L. et al. Grape Juice Consumption with or without High Fat Diet during Pregnancy Reduced the Weight Gain and Improved Lipid Profile and Oxidative Stress Levels in Liver and Serum from Wistar Rats. *Beverages*, v. 4, n. 4, p. 78, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/beverages4040078>>.

GUEGUEN, N. et al. Resveratrol Directly Binds to Mitochondrial Complex I and Increases Oxidative Stress in Brain Mitochondria of Aged Mice. *PloS one*, v. 10, n. 12, p. e0144290, 18 dez. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0144290>>.

GUREEV, A. P.; SHAFOROSTOVA, E. A.; POPOV, V. N. Regulation of mitochondrial biogenesis as a way for active longevity: Interaction between the Nrf2 and PGC-1 α signaling pathways. *Frontiers in genetics*, v. 10, n. MAY, p. 1–12, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2019.00435>>.

HACHUL, A. C. L. et al. Maternal consumption of green tea extract during pregnancy and lactation alters offspring's metabolism in rats. *PloS one*, v. 13, n. 7, p. e0199969, 18 jul. 2018a. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0199969>>.

HACHUL, A. C. L. et al. Effect of the consumption of green tea extract during pregnancy and lactation on metabolism of mothers and 28d-old offspring. *Scientific reports*, v. 8, n. 1, p. 1869, 30 dez. 2018b. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-018-20174-x>>.

HALES C. NICHOLAS; BARKER, D. J. P. The thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, v. 55, n. 8, p. 2085–2088, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00125-012-2589-y>>.

HALLIWELL, B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant physiology*, v. 141, n. 2, p. 312–322, jun. 2006. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/lookup/doi/10.1104/pp.106.077073>>.

HALLIWELL, B. The wanderings of a free radical. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 46, n. 5, p. 531–542, mar. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584908007156>>.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. [s.l.] Oxford University Press, 2015.

HARNACK, L. J.; DEROSIER, K. L.; RYDELL, S. A. Results of a population-based survey of adults' attitudes and beliefs about herbal products. *Journal of the American Pharmacists Association: JAPhA*, v. 43, n. 5, p. 596–601, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1331/154434503322452238>>.

HERRERIAS, T. et al. Eupafolin: Effect on Mitochondrial Energetic Metabolism. *Bioorganic & medicinal chemistry*, v. 16, n. 2, p. 854–861, 15 jan. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2007.10.029>>.

HOLST, L. et al. Remedies During Pregnancy. *Journal of alternative and complementary medicine*, v. 15, n. 7, p. 787–792, 2009.

HOOD, W. R. et al. Life History Trade-Offs within the Context of Mitochondrial Hormesis. *Integrative and comparative biology*, v. 58, n. 3, p. 567–577, 1 set. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/icb/icy073>>.

ISHIHARA, N. et al. Mitochondrial Fission Factor Drp1 Is Essential for Embryonic Development and Synapse Formation in Mice. *Nature cell biology*, v. 11, n. 8, p. 958–966, ago. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ncb1907>>.

ISKUSNYKH, I. Y.; ZAKHAROVA, A. A.; PATHAK, D. Glutathione in Brain Disorders and Aging. *Molecules*, v. 27, n. 1, 5 jan. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/molecules27010324>>.

IWATA, R.; VANDERHAEGHEN, P. *Mitochondria dynamics in postmitotic cells drives neurogenesis through Sirtuin-dependent chromatin remodeling*. 8 fev. 2020. Disponível em:

<<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.938985v1>>. Acesso em: 28 mar. 2022.

IWATA, R.; VANDERHAEGHEN, P. Regulatory roles of mitochondria and metabolism in neurogenesis. *Current opinion in neurobiology*, v. 69, p. 231–240, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.conb.2021.05.003>>.

JEŽEK, J.; COOPER, K. F.; STRICH, R. Reactive Oxygen Species and Mitochondrial Dynamics: The Yin and Yang of Mitochondrial Dysfunction and Cancer Progression. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 7, n. 1, 16 jan. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/antiox7010013>>.

JIANG, D.-Q. et al. SIRT3 in Neural Stem Cells Attenuates Microglia Activation-Induced Oxidative Stress Injury Through Mitochondrial Pathway. *Frontiers in cellular neuroscience*, v. 11, p. 7, 31 jan. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fncel.2017.00007>>.

JONES, D. P.; SIES, H. The Redox Code. *Antioxidants & redox signaling*, v. 23, n. 9, p. 734–746, 20 set. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1089/ars.2015.6247>>.

JU, W.-K. et al. Inhibition of CAMP/PKA Pathway Protects Optic Nerve Head Astrocytes against Oxidative Stress by Akt/Bax Phosphorylation-Mediated Mfn1/2 Oligomerization. *Oxidative medicine and cellular longevity*, v. 2019, p. 8060962, 6 nov. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2019/8060962>>.

JUNG, U. J. et al. Naringin supplementation lowers plasma lipids and enhances erythrocyte antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic subjects.

Clinical nutrition , v. 22, n. 6, p. 561–568, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0261-5614\(03\)00059-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0261-5614(03)00059-1)>.

KANNER, J. Polyphenols by Generating H₂O₂, Affect Cell Redox Signaling, Inhibit PTPs and Activate Nrf2 Axis for Adaptation and Cell Surviving: In Vitro, In Vivo and Human Health. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 9, n. 9, 27 ago. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/antiox9090797>>.

KENNEDY, D. A. et al. Herbal medicine use in pregnancy: Results of a multinational study. *BMC complementary and alternative medicine*, v. 13, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-13-355>>.

KENNEDY, D. O. Polyphenols and the Human Brain : Plant “ Secondary Metabolite ” Ecologic Roles and. n. 1, p. 515–533, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3945/an.114.006320.Polyphenols>>.

KHACHO, M. et al. Mitochondrial Dynamics Impacts Stem Cell Identity and Fate Decisions by Regulating a Nuclear Transcriptional Program. *Cell stem cell*, v. 19, n. 2, p. 232–247, ago. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2016.04.015>>.

KHACHO, M. et al. Mitochondrial dysfunction underlies cognitive defects as a result of neural stem cell depletion and impaired neurogenesis. *Human molecular genetics*, v. 26, n. 17, p. 3327–3341, 1 set. 2017. Disponível em: <<https://academic.oup.com/hmg/article/26/17/3327/3865114>>.

KHACHO, M.; HARRIS, R.; SLACK, R. S. Mitochondria as Central Regulators of Neural Stem Cell Fate and Cognitive Function. *Nature reviews. Neuroscience*, v.

20, n. 1, p. 34–48, jan. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41583-018-0091-3>>.

KHACHO, M.; SLACK, R. S. Mitochondrial Activity in the Regulation of Stem Cell Self-Renewal and Differentiation. *Current opinion in cell biology*, v. 49, p. 1–8, dez. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ceb.2017.11.003>>.

KHACHO, M.; SLACK, R. S. Mitochondrial dynamics in the regulation of neurogenesis: From development to the adult brain. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, v. 247, n. 1, p. 47–53, jan. 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/dvdy.24538>>.

KIM, D. I. et al. A β -Induced Drp1 Phosphorylation through Akt Activation Promotes Excessive Mitochondrial Fission Leading to Neuronal Apoptosis. *Biochimica et biophysica acta*, v. 1863, n. 11, p. 2820–2834, nov. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.09.003>>.

KIRKPATRICK, C. F.; PAGE, R. M.; HAYWARD, K. S. Nonvitamin, nonmineral supplement use and beliefs about safety and efficacy among rural older adults in southeast and south central Idaho. *Journal of nutrition for the elderly*, v. 26, n. 1–2, p. 59–82, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17890204>>.

KLEPSE, T. B. et al. Assessment of Patients' Perceptions and Beliefs Regarding Herbal Therapies. *Pharmacotherapy*, v. 20, n. 1, p. 83–87, jan. 2000. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1592/phco.20.1.83.34658>>.

KNOBLOCH, M. et al. A Fatty Acid Oxidation-Dependent Metabolic Shift Regulates Adult Neural Stem Cell Activity. *Cell reports*, v. 20, n. 9, p. 2144–2155, 29 ago. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.029>>.

KNOPFHOLZ, J. et al. Validation of the Friedewald Formula in Patients with Metabolic Syndrome. *Cholesterol*, v. 2014, 6 fev. 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/cholesterol/2014/261878/>>. Acesso em: 22 mar. 2022.

KOEMEL, N. A.; SKILTON, M. R. Epigenetic Aging in Early Life: Role of Maternal and Early Childhood Nutrition. *Current nutrition reports*, v. 11, n. 2, p. 318–328, jun. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s13668-022-00402-7>>.

KOUDOUFIO, M. et al. Insight into Polyphenol and Gut Microbiota Crosstalk: Are Their Metabolites the Key to Understand Protective Effects against Metabolic Disorders? *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 9, n. 10, 13 out. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/antiox9100982>>.

KRIEGSTEIN, A.; ALVAREZ-BUYLLA, A. The Glial Nature of Embryonic and Adult Neural Stem Cells. *Annual review of neuroscience*, v. 32, p. 149–184, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135600>>.

KUMAR, A.; PRAKASH, A.; DOGRA, S. Naringin Alleviates Cognitive Impairment, Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress Induced by D-Galactose in Mice. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, v. 48, n. 2, p. 626–632, fev. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.043>>.

KUMAR, P.; KUMAR, A. Protective Effect of Hesperidin and Naringin against 3-Nitropropionic Acid Induced Huntington's like Symptoms in Rats: Possible Role of Nitric Oxide. *Behavioural brain research*, v. 206, n. 1, p. 38–46, 5 jan. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2009.08.028>>.

KUROWSKA, E. M. et al. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *The American journal of clinical nutrition*, v. 72, n. 5, p. 1095–1100, 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/72.5.1095>>.

LAGOA, R. et al. Complex I and Cytochrome c Are Molecular Targets of Flavonoids That Inhibit Hydrogen Peroxide Production by Mitochondria. *Biochimica et biophysica acta*, v. 1807, n. 12, p. 1562–1572, dez. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabbio.2011.09.022>>.

LAZUTKIN, A.; PODGORNYY, O.; ENIKOLOPOV, G. Modes of Division and Differentiation of Neural Stem Cells. *Behavioural brain research*, v. 374, p. 112118, 18 nov. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112118>>.

LE BELLE, J. E. et al. Proliferative Neural Stem Cells Have High Endogenous ROS Levels that Regulate Self-Renewal and Neurogenesis in a PI3K/Akt-Dependant Manner. *Cell stem cell*, v. 8, n. 1, p. 59–71, jan. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2010.11.028>>.

LEE, A. Y. et al. Sirt3 Pharmacologically Promotes Insulin Sensitivity through PI3/AKT/MTOR and Their Downstream Pathway in Adipocytes. *International*

journal of molecular sciences, v. 23, n. 7, 29 mar. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/ijms23073740>>.

LENROOT, R. K. et al. Sexual dimorphism of brain developmental trajectories during childhood and adolescence. *NeuroImage*, v. 36, n. 4, p. 1065–1073, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.03.053>>.

LI, X.; YANG, T.; SUN, Z. Hormesis in Health and Chronic Diseases. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, v. 30, n. 12, p. 944–958, dez. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2019.08.007>>.

LIESA, M.; SHIRIHAI, O. S. Mitochondrial Dynamics in the Regulation of Nutrient Utilization and Energy Expenditure. *Cell metabolism*, v. 17, n. 4, p. 491–506, 2 abr. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2013.03.002>>.

LIM, H. W.; LIM, H. Y.; WONG, K. P. Uncoupling of Oxidative Phosphorylation by Curcumin: Implication of Its Cellular Mechanism of Action. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 389, n. 1, p. 187–192, 6 nov. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.08.121>>.

LIU, P. et al. Quercetin Ameliorates Hypobaric Hypoxia-Induced Memory Impairment through Mitochondrial and Neuron Function Adaptation via the PGC-1 α Pathway. *Restorative neurology and neuroscience*, v. 33, n. 2, p. 143–157, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3233/RNN-140446>>.

LUCA, S. V. et al. Bioactivity of Dietary Polyphenols: The Role of Metabolites. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 60, n. 4, p. 626–659, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2018.1546669>>.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, v. 224, p. 164–175, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>>.

LYUBLINSKAYA, O.; ANTUNES, F. Measuring Intracellular Concentration of Hydrogen Peroxide with the Use of Genetically Encoded H₂O₂ Biosensor HyPer. *Redox biology*, v. 24, p. 101200, jun. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2019.101200>>.

MA, C.-Y. et al. SIRT1 Suppresses Self-Renewal of Adult Hippocampal Neural Stem Cells. *Development*, v. 141, n. 24, p. 4697–4709, dez. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1242/dev.117937>>.

MANACH, C. et al. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, v. 79, n. 5, p. 727–747, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>>.

MANDY, M.; NYIRENDA, M. Developmental Origins of Health and Disease: The Relevance to Developing Nations. *International health*, v. 10, n. 2, p. 66–70, 1 mar. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/inthealth/ihy006>>.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS PRESENTES EM EXTRATOS NATURAIS. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1218–1223, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000500051>>.

MARTEL, J. et al. Hormetic Effects of Phytochemicals on Health and Longevity. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, v. 30, n. 6, p. 335–346, jun. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2019.04.001>>.

MARYANOVICH, M. et al. An MTCH2 Pathway Repressing Mitochondria Metabolism Regulates Haematopoietic Stem Cell Fate. *Nature communications*, v. 6, n. 1, p. 1–9, 29 jul. 2015. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/ncomms8901>>. Acesso em: 22 jun. 2022.

MATSUO, M. et al. Cytotoxicity of flavonoids toward cultured normal human cells. *Biological & pharmaceutical bulletin*, v. 28, n. 2, p. 253–259, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1248/bpb.28.253>>.

MBEMBA FUNDU, T. et al. Subcellular localization of glutathione peroxidase, change in glutathione system during ageing and effects on cardiometabolic risks and associated diseases. Em: *Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease*. [s.l.] IntechOpen, 2020.

MEENA, R. et al. Altered spermatogenesis, steroidogenesis and suppressed fertility in adult male rats exposed to genistein, a non-steroidal phytoestrogen during embryonic development. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, v. 99, p. 70–77, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.11.020>>.

MICHISHITA, E. et al. Evolutionarily Conserved and Nonconserved Cellular Localizations and Functions of Human SIRT Proteins. *Molecular biology of the cell*, v. 16, n. 10, p. 4623–4635, out. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1091/mbc.e05-01-0033>>.

MILONE, M.; BENARROCH, E. E. Mitochondrial Dynamics: General Concepts and Clinical Implications. *Neurology*, v. 78, n. 20, p. 1612–1619, 15 maio 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182563c46>>.

MIN, J.-W. et al. Vitexin Reduces Hypoxia-Ischemia Neonatal Brain Injury by the Inhibition of HIF-1alpha in a Rat Pup Model. *Neuropharmacology*, v. 99, p. 38–50, dez. 2015. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/med/26187393>>.

MISHRA, P.; CHAN, D. C. Metabolic Regulation of Mitochondrial Dynamics. *The Journal of cell biology*, v. 212, n. 4, p. 379–387, 15 fev. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201511036>>.

MOREIRA, A. C. et al. Resveratrol Affects Differently Rat Liver and Brain Mitochondrial Bioenergetics and Oxidative Stress in Vitro: Investigation of the Role of Gender. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, v. 53, p. 18–26, mar. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.031>>.

MUROTA, K.; NAKAMURA, Y.; UEHARA, M. Flavonoid Metabolism: The Interaction of Metabolites and Gut Microbiota. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, v. 82, n. 4, p. 600–610, abr. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/09168451.2018.1444467>>.

NADAL-SERRANO, M. et al. Genistein Modulates Oxidative Stress in Breast Cancer Cell Lines According to ER α /ER β Ratio: Effects on Mitochondrial Functionality, Sirtuins, Uncoupling Protein 2 and Antioxidant Enzymes. *The international journal of biochemistry & cell biology*, v. 45, n. 9, p. 2045–2051, set. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2013.07.002>>.

NAMKHAH, Z. et al. Does Naringenin Supplementation Improve Lipid Profile, Severity of Hepatic Steatosis and Probability of Liver Fibrosis in Overweight/Obese Patients with NAFLD? A Randomised, Double-Blind,

Placebo-Controlled, Clinical Trial. *International journal of clinical practice*, v. 75, n. 11, p. e14852, nov. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/ijcp.14852>>.

NAZZARO, F. et al. Polyphenols, the new frontiers of prebiotics. Em: *Advances in Food and Nutrition Research*. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. 94p. 35–89.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. [s.l.] W. H. Freeman, 2012.

NICHOLLS, D. G. Mitochondrial Proton Leaks and Uncoupling Proteins. *Biochimica et Biophysica Acta, Bioenergetics*, v. 1862, n. 7, p. 148428, 1 jul. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2021.148428>>.

NORDENG, H.; HAVNEN, G. C. Use of herbal drugs in pregnancy: A survey among 400 Norwegian women. *Pharmacoepidemiology and drug safety*, v. 13, n. 6, p. 371–380, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/pds.945>>.

OKUYAMA, S. et al. Inhibitory Effects of Auraptene and Naringin on Astroglial Activation, Tau Hyperphosphorylation, and Suppression of Neurogenesis in the Hippocampus of Streptozotocin-Induced Hyperglycemic Mice. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 7, n. 8, 19 ago. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/antiox7080109>>.

OTAEGI, G. et al. Modulation of the PI 3-Kinase-Akt Signalling Pathway by IGF-I and PTEN Regulates the Differentiation of Neural Stem/Precursor Cells. *Journal of cell science*, v. 119, n. Pt 13, p. 2739–2748, 1 jul. 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1242/jcs.03012>>.

OWENS, C.; BAERGEN, R.; PUCKETT, D. Online Sources of Herbal Product Information. *The American journal of medicine*, v. 127, n. 2, p. 109–115, fev. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2013.09.016>>.

PALOMERA-AVALOS, V. et al. Resveratrol Protects SAMP8 Brain Under Metabolic Stress: Focus on Mitochondrial Function and Wnt Pathway. *Molecular neurobiology*, v. 54, n. 3, p. 1661–1676, abr. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12035-016-9770-0>>.

PARASCANDOLO, A.; LAUKKANEN, M. O. Carcinogenesis and Reactive Oxygen Species Signaling: Interaction of the NADPH Oxidase NOX1-5 and Superoxide Dismutase 1-3 Signal Transduction Pathways. *Antioxidants & redox signaling*, v. 30, n. 3, p. 443–486, 20 jan. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1089/ars.2017.7268>>.

PARRADO-FERNÁNDEZ, C. et al. Anthocyanins Protect from Complex I Inhibition and APP^{swe} Mutation through Modulation of the Mitochondrial Fission/Fusion Pathways. *Biochimica et biophysica acta*, v. 1862, n. 11, p. 2110–2118, nov. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.08.002>>.

PERKINS, A. et al. Peroxiredoxins: Guardians against Oxidative Stress and Modulators of Peroxide Signaling. *Trends in biochemical sciences*, v. 40, n. 8, p. 435–445, ago. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2015.05.001>>.

PILLAI, V. B.; SUNDARESAN, N. R.; GUPTA, M. P. Regulation of Akt Signaling by Sirtuins. *Circulation research*, v. 114, n. 2, p. 368–378, 17 jan. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.300536>>.

PRAKASH, A.; SHUR, B.; KUMAR, A. Naringin Protects Memory Impairment and Mitochondrial Oxidative Damage against Aluminum-Induced Neurotoxicity in Rats. *The International journal of neuroscience*, v. 123, n. 9, p. 636–645, set. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3109/00207454.2013.785542>>.

QANUNGO, S. et al. Epigallocatechin-3-Gallate Induces Mitochondrial Membrane Depolarization and Caspase-Dependent Apoptosis in Pancreatic Cancer Cells. *Carcinogenesis*, v. 26, n. 5, p. 958–967, maio 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgi040>>.

QU, X. et al. Quercetin Improves Hypoxia-Ischemia Induced Cognitive Deficits via Promoting Remyelination in Neonatal Rat. *Brain research*, v. 1553, p. 31–40, 17 mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2014.01.035>>.

QUIRÓS, P. M.; MOTTIS, A.; AUWERX, J. Mitonuclear communication in homeostasis and stress. *Nature reviews. Molecular cell biology*, v. 17, n. 4, p. 213–226, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrm.2016.23>>.

RAYNOR, D. K. et al. Buyer Beware? Does the Information Provided with Herbal Products Available over the Counter Enable Safe Use? *BMC medicine*, v. 9, p. 94, 9 ago. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-9-94>>.

READ, M. H. et al. Use of Herbal Supplements Reported by Older Adults in Congregate Meal Sites. *Topics in clinical nutrition*, v. 17, n. 5, p. 62–67, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1097/00008486-200212000-00007>>.

REEMST, K. et al. The indispensable roles of microglia and astrocytes during brain development. *Frontiers in human neuroscience*, v. 10, n. V2016, p. 1–28, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fnhum.2016.00566>>.

RENDEIRO, C.; RHODES, J. S.; SPENCER, J. P. E. The Mechanisms of Action of Flavonoids in the Brain: Direct versus Indirect Effects. *Neurochemistry international*, v. 89, p. 126–139, out. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2015.08.002>>.

RICE, D.; BARONE, S. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models. *Environmental health perspectives*, v. 108, n. SUPPL. 3, p. 511, jun. 2000. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/3454543?origin=crossref>>.

ROBB, E. L. et al. Resveratrol Stimulates Mitochondrial Fusion by a Mechanism Requiring Mitofusin-2. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 485, n. 2, p. 249–254, 1 abr. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.02.102>>.

S NARASIMHAN, K. K. et al. Reductive stress promotes protein aggregation and impairs neurogenesis. *Redox Biology*, v. 37, n. September, p. 101739, out. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101739>>.

SACHDEVA, A. K.; CHOPRA, K. Naringin mitigate okadaic acid-induced cognitive impairment in an experimental paradigm of Alzheimer's disease.

Journal of functional foods, v. 19, p. 110–125, 1 dez. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615004090>>.

SACHDEVA, A. K.; KUHAD, A.; CHOPRA, K. Naringin Ameliorates Memory Deficits in Experimental Paradigm of Alzheimer's Disease by Attenuating Mitochondrial Dysfunction. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, v. 127, p. 101–110, dez. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2014.11.002>>.

SAMANT, S. A. et al. SIRT3 Deacetylates and Activates OPA1 to Regulate Mitochondrial Dynamics during Stress. *Molecular and cellular biology*, v. 34, n. 5, p. 807–819, mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/MCB.01483-13>>.

SANTOS, S. S. et al. The Mitochondrial Antioxidant Sirtuin3 Cooperates with Lipid Metabolism to Safeguard Neurogenesis in Aging and Depression. *Cells*, v. 11, n. 1, 29 dez. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/cells11010090>>.

SANTOS-TERRA, J. et al. Resveratrol Prevents Long-Term Structural Hippocampal Alterations and Modulates Interneuron Organization in an Animal Model of ASD. *Brain research*, v. 1768, p. 147593, 1 out. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147593>>.

SANTOS-TERRA, J. et al. Resveratrol Prevents Cytoarchitectural and Interneuronal Alterations in the Valproic Acid Rat Model of Autism. *International journal of molecular sciences*, v. 23, n. 8, 7 abr. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/ijms23084075>>.

SCHAFFER, T. K. et al. Chronic consumption of purple grape juice in gestational-lactation and post lactation promotes anxiolity effect and antioxidant defense improvement in brain from Wistar male offsprings. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, v. 15, p. 46–54, mar. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352385918300707>>.

SEMPLE, B. D. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Progress in neurobiology*, n. 0, p. 1–16, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.04.001>>.

SERINO, A.; SALAZAR, G. Protective Role of Polyphenols against Vascular Inflammation, Aging and Cardiovascular Disease. *Nutrients*, v. 11, n. 1, 28 dez. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/nu11010053>>.

SHIRAHATA, M.; TANG, W. Y.; KOSTUK, E. W. A short-term fasting in neonates induces breathing instability and epigenetic modification in the carotid body. *Advances in experimental medicine and biology*, v. 860, p. 187–193, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-18440-1_20>.

SHURTLEFF, D.; TOBACH, E. Neonatal rat pups' (Long-Evans DAB) behavioral response to thermal stimuli. *Bulletin of the Psychonomic Society*, v. 13, n. 2, p. 75–77, 1979. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3758/BF03335017>>.

SIDOROVA-DARMOS, E.; SOMMER, R.; EUBANKS, J. H. The Role of SIRT3 in the Brain Under Physiological and Pathological Conditions. *Frontiers in cellular neuroscience*, v. 12, p. 196, 25 jul. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fncel.2018.00196>>.

SIES, H. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, v. 4, p. 180–183, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>>.

SIES, H. Hydrogen Peroxide as a Central Redox Signaling Molecule in Physiological Oxidative Stress: Oxidative Eustress. *Redox biology*, v. 11, p. 613–619, abr. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>>.

SIES, H. et al. Defining Roles of Specific Reactive Oxygen Species (ROS) in Cell Biology and Physiology. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 21 fev. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41580-022-00456-z>>.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative Stress. *Annual review of biochemistry*, v. 86, p. 715–748, 20 jun. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>>.

SIES, H.; JONES, D. P. Reactive Oxygen Species (ROS) as Pleiotropic Physiological Signalling Agents. *Nature reviews. Molecular cell biology*, v. 21, n. 7, p. 363–383, 30 mar. 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41580-020-0230-3>>. Acesso em: 16 maio. 2022.

SILVA, L. B. A. R. et al. Bioactive food compounds, epigenetics and chronic disease prevention: Focus on early-life interventions with polyphenols. *Food research international*, v. 125, n. March, p. 108646, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108646>>.

SILVEIRA, P. P. et al. Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD). *Jornal de pediatria*, v. 83, n. 6, p. 494–504, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2223/JPED.1728>>.

SINGH, C. K. et al. The Role of Sirtuins in Antioxidant and Redox Signaling. *Antioxidants & redox signaling*, v. 28, n. 8, p. 643–661, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1089/ars.2017.7290>>.

SKAPARE, E. et al. Glyoxalase 1 and glyoxalase 2 activities in blood and neuronal tissue samples from experimental animal models of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiological Sciences*, v. 62, n. 6, p. 469–478, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12576-012-0224-9>>.

SNYDER, F. J. et al. Use and safety perceptions regarding herbal supplements: A study of older persons in Southeast Idaho. *Journal of nutrition for the elderly*, v. 28, n. 1, p. 81–95, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/01639360802634043>>.

SOUSA SILVA, M. et al. The glyoxalase pathway: The first hundred years... and beyond. *Biochemical Journal*, v. 453, n. 1, p. 1–15, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1042/BJ20121743>>.

SPENCER, J. P. E. Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. *The Proceedings of the Nutrition Society*, v. 69, n. 2, p. 244–260, 17 maio 2010. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0029665110000054/type/journal_article>.

STEINBERG, G. R.; CARLING, D. AMP-Activated Protein Kinase: The Current Landscape for Drug Development. *Nature reviews. Drug discovery*, v. 18, n. 7, p. 527–551, jul. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41573-019-0019-2>>.

STEVENS, J. F.; REVEL, J. S.; MAIER, C. S. Mitochondria-Centric Review of Polyphenol Bioactivity in Cancer Models. *Antioxidants & redox signaling*, v. 29, n. 16, p. 1589–1611, 1 dez. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1089/ars.2017.7404>>.

STONE, V. et al. Adaptive effects of gestational caloric restriction in the mitochondria of Wistar rats' brain: A DOHaD approach. *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, v. 79, n. 1, p. 1–10, 5 dez. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1016/j.ijdevneu.2019.09.004>>.

SUNDARESAN, N. R. et al. Sirt3 Blocks the Cardiac Hypertrophic Response by Augmenting Foxo3a-Dependent Antioxidant Defense Mechanisms in Mice. *The Journal of clinical investigation*, v. 119, n. 9, p. 2758–2771, set. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1172/JCI39162>>.

SUZUKI, K. The developing world of DOHaD. *Journal of developmental origins of health and disease*, v. 9, n. 3, p. 266–269, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S2040174417000691>>.

SYED, W. et al. Prevalence, Beliefs, and the Practice of the Use of Herbal and Dietary Supplements Among Adults in Saudi Arabia: An Observational Study. *Inquiry: a journal of medical care organization, provision and financing*, v. 59, p.

469580221102202, jan. 2022. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1177/00469580221102202>>.

TAKUBO, K. et al. Regulation of Glycolysis by Pdk Functions as a Metabolic Checkpoint for Cell Cycle Quiescence in Hematopoietic Stem Cells. *Cell stem cell*, v. 12, n. 1, p. 49–61, 3 jan. 2013. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2012.10.011>>.

TAO, A. et al. Experimental Diabetes Mellitus Exacerbates Ischemia/Reperfusion-Induced Myocardial Injury by Promoting Mitochondrial Fission: Role of down-Regulation of Myocardial Sirt1 and Subsequent Akt/Drp1 Interaction. *The international journal of biochemistry & cell biology*, v. 105, p. 94–103, dez. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2018.10.011>>.

TEBAY, L. E. et al. Mechanisms of activation of the transcription factor Nrf2 by redox stressors, nutrient cues, and energy status and the pathways through which it attenuates degenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 88, p. 108–146, 1 nov. 2015. Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584915002890>>.

TILOKANI, L. et al. Mitochondrial Dynamics: Overview of Molecular Mechanisms. *Essays in biochemistry*, v. 62, n. 3, p. 341–360, 20 jul. 2018. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1042/EBC20170104>>.

TODAKA, E. et al. Fetal exposure to phytoestrogens - The difference in phytoestrogen status between mother and fetus. *Environmental research*, v. 99, n. 2, p. 195–203, 2005. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2004.11.006>>.

TORRES-PÉREZ, M. et al. Resveratrol Enhances Neuroplastic Changes, Including Hippocampal Neurogenesis, and Memory in Balb/C Mice at Six Months of Age. *PloS one*, v. 10, n. 12, p. e0145687, 22 dez. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0145687>>.

TUTUNCHI, H. et al. Naringenin, a Flavanone with Antiviral and Anti-Inflammatory Effects: A Promising Treatment Strategy against COVID-19. *Phytotherapy research: PTR*, v. 34, n. 12, p. 3137–3147, dez. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/ptr.6781>>.

TYAGI, A. et al. SIRT3 Deficiency-Induced Mitochondrial Dysfunction and Inflammasome Formation in the Brain. *Scientific reports*, v. 8, n. 1, p. 17547, 3 dez. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-35890-7>>.

URSINI, F.; MAIORINO, M. Glutathione Peroxidases. Em: LENNARZ, W. J.; LANE, M. D. (Ed.). *Encyclopedia of Biological Chemistry (Second Edition)*. Waltham: Academic Press, 2013. p. 399–404.

VADLAKONDA, L. et al. The Paradox of Akt-MTOR Interactions. *Frontiers in oncology*, v. 3, p. 165, 20 jun. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2013.00165>>.

VEGA, C. C. et al. Resveratrol partially prevents oxidative stress and metabolic dysfunction in pregnant rats fed a low protein diet and their offspring. *The Journal of physiology*, v. 594, n. 5, p. 1483–1499, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1113/JP271543>>.

VINSON, J. A. Intracellular Polyphenols: How Little We Know. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 67, n. 14, p. 3865–3870, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.8b07273>>.

VISCO, D. B. et al. A Systematic Review of Neurogenesis in Animal Models of Early Brain Damage: Implications for Cerebral Palsy. *Experimental neurology*, v. 340, p. 113643, jun. 2021a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113643>>.

VISCO, D. B. et al. Could Polyphenols Be Used as a Neuroprotector Therapeutic Agent in Perinatal Brain Disorders? *Nutritional neuroscience*, p. 1–3, 18 ago. 2021b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/1028415X.2021.1968104>>.

VISWANATHA, G. L.; SHYLAJA, H.; MOOLEMATH, Y. The beneficial role of Naringin- a citrus bioflavonoid, against oxidative stress-induced neurobehavioral disorders and cognitive dysfunction in rodents: A systematic review and meta-analysis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 94, p. 909–929, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.072>>.

VONG, C. I. et al. All Polyphenols Are Not Created Equal: Exploring the Diversity of Phenolic Metabolites. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 70, n. 7, p. 2077–2091, 23 fev. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07179>>.

WADHWA, P. D. et al. Developmental Origins of Health and Disease: Brief History of the Approach and Current Focus on Epigenetic Mechanisms. *Seminars in reproductive medicine*, v. 27, n. 5, p. 358–368, set. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1055/s-0029-1237424>>.

WAI, T.; LANGER, T. Mitochondrial Dynamics and Metabolic Regulation. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, v. 27, n. 2, p. 105–117, fev. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2015.12.001>>.

WAKABAYASHI, J. et al. The Dynamin-Related GTPase Drp1 Is Required for Embryonic and Brain Development in Mice. *The Journal of cell biology*, v. 186, n. 6, p. 805–816, 21 set. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1083/jcb.200903065>>.

WANG, D. et al. Naringin Improves Neuronal Insulin Signaling, Brain Mitochondrial Function, and Cognitive Function in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *Cellular and molecular neurobiology*, v. 35, n. 7, p. 1061–1071, out. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10571-015-0201-y>>.

WANG, H.-N. et al. Effects of Sirt3-autophagy and Resveratrol Activation on Myocardial Hypertrophy and Energy Metabolism. *Molecular medicine reports*, v. 22, n. 2, p. 1342–1350, ago. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2020.11195>>.

WANG, L. et al. Brain Development and Akt Signaling: The Crossroads of Signaling Pathway and Neurodevelopmental Diseases. *Journal of molecular neuroscience: MN*, v. 61, n. 3, p. 379–384, mar. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12031-016-0872-y>>.

WONG, H.-S.; BENOIT, B.; BRAND, M. D. Mitochondrial and Cytosolic Sources of Hydrogen Peroxide in Resting C2C12 Myoblasts. *Free radical biology & medicine*, v. 130, p. 140–150, jan. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.448>>.

WOOD, Z. A.; POOLE, L. B.; KARPLUS, P. A. Peroxiredoxin Evolution and the Regulation of Hydrogen Peroxide Signaling. *Science*, v. 300, n. 5619, p. 650–653, 25 abr. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1080405>>.

WU, M.; LIU, F.; GUO, Q. Quercetin Attenuates Hypoxia-Ischemia Induced Brain Injury in Neonatal Rats by Inhibiting TLR4/NF-KB Signaling Pathway. *International immunopharmacology*, v. 74, p. 105704, set. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2019.105704>>.

WU, X. et al. SIRT3 Protects against Early Brain Injury Following Subarachnoid Hemorrhage via Promoting Mitochondrial Fusion in an AMPK Dependent Manner. *Chinese neurosurgical journal*, v. 6, p. 1, 3 jan. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s41016-019-0182-7>>.

XIE, X. et al. Mammalian AKT, the Emerging Roles on Mitochondrial Function in Diseases. *Aging and disease*, v. 13, n. 1, p. 157–174, fev. 2022. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.14336/AD.2021.0729>>.

XIONG, Y. et al. SIRT3 Is Correlated with the Malignancy of Non-Small Cell Lung Cancer. *International journal of oncology*, v. 50, n. 3, p. 903–910, mar. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3892/ijo.2017.3868>>.

YANG, J. et al. Protective Effects of Naringin in Cerebral Infarction and Its Molecular Mechanism. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, v. 26, p. e918772, 4 jan. 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.12659/MSM.918772>>.

YANG, X. et al. Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into Neurons or Cortical Organoids Requires Transcriptional Co-Regulation by UTX and 53BP1.

Nature neuroscience, v. 22, n. 3, p. 362–373, 4 fev. 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41593-018-0328-5>>. Acesso em: 28 jun. 2022.

YANG, Y.-L. et al. Ginsenoside Rg5 Increases Cardiomyocyte Resistance to Ischemic Injury through Regulation of Mitochondrial Hexokinase-II and Dynamin-Related Protein 1. *Cell death & disease*, v. 8, n. 2, p. e2625, 23 fev. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/cddis.2017.43>>.

YEN, G. C. et al. Pro-oxidative properties of flavonoids in human lymphocytes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, v. 67, n. 6, p. 1215–1222, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1271/bbb.67.1215>>.

YU, L.-M. et al. Naringenin Improves Mitochondrial Function and Reduces Cardiac Damage Following Ischemia-Reperfusion Injury: The Role of the AMPK-SIRT3 Signaling Pathway. *Food & function*, v. 10, n. 5, p. 2752–2765, 22 maio 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/c9fo00001a>>.

YU, T.; WANG, L.; YOON, Y. Morphological Control of Mitochondrial Bioenergetics. *Frontiers in bioscience*, v. 20, n. 2, p. 229–246, 1 jan. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2741/4306>>.

YUSOF, S.; GHAZALI, H. M.; KING, G. S. Naringin content in local citrus fruits. *Food chemistry*, v. 37, n. 2, p. 113–121, jan. 1990. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0308814690900851>>.

ZEIDA, A. et al. Catalysis of Peroxide Reduction by Fast Reacting Protein Thiols. *Chemical reviews*, v. 119, n. 19, p. 10829–10855, 9 out. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00371>>.

ZENG, H. et al. Naringenin reduces early brain injury in subarachnoid hemorrhage (SAH) mice: The role of the AMPK/SIRT3 signaling pathway. *Journal of functional foods*, v. 72, p. 104043, 1 set. 2020a. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S175646462030267X>>.

ZENG, Z. et al. Exercise-Induced Autophagy Suppresses Sarcopenia Through Akt/MTOR and Akt/FoxO3a Signal Pathways and AMPK-Mediated Mitochondrial Quality Control. *Frontiers in physiology*, v. 11, p. 583478, 2 nov. 2020b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2020.583478>>.

ZHANG, S. et al. Glucose Metabolic Crosstalk and Regulation in Brain Function and Diseases. *Progress in neurobiology*, v. 204, p. 102089, set. 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2021.102089>>.

ZHENG, J.; RAMIREZ, V. D. Inhibition of Mitochondrial Proton F₀F₁-ATPase/ATP Synthase by Polyphenolic Phytochemicals. *British journal of pharmacology*, v. 130, n. 5, p. 1115–1123, jul. 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp.0703397>>.

ZHENG, X. et al. Metabolic reprogramming during neuronal differentiation from aerobic glycolysis to neuronal oxidative phosphorylation. *eLife*, v. 5, n. JUN2016, p. 1–25, 10 jun. 2016. Disponível em: <<https://elifesciences.org/articles/13374>>.

ZIELINSKY, P. et al. Maternal consumption of polyphenol-rich foods in late pregnancy and fetal ductus arteriosus flow dynamics. *Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association*, v. 30, n. 1, p. 17–21, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/jp.2009.101>>.

ZIELINSKY, P.; BUSATO, S. Prenatal effects of maternal consumption of polyphenol-rich foods in late pregnancy upon fetal ductus arteriosus. *Birth Defects Research Part C - Embryo Today: Reviews*, v. 99, n. 4, p. 256–274, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/bdrc.21051>>.

ZIELINSKY, P.; MARTIGNONI, F. V.; VIAN, I. Deleterious effects of maternal ingestion of cocoa upon fetal ductus arteriosus in late pregnancy. *Frontiers in pharmacology*, v. 5, n. DEC, p. 1–4, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2014.00281>>.

ZOU, T. et al. Resveratrol supplementation of high-fat diet-fed pregnant mice promotes brown and beige adipocyte development and prevents obesity in male offspring. *The Journal of physiology*, v. 595, n. 5, p. 1547–1562, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1113/JP273478>>.

ANEXOS

Anexo I: Métodos suplementares

Análise dos parâmetros metabólicos no plasma das ratas mães e prole

Para realizar as análises, as ratas mães e a prole foram separadas nos dias pós-natais 1, 7 e 21 e colocados em jejum durante 2h. Após esse período, foi realizada a eutanásia por decapitação e o sangue coletado com o auxílio de um funil heparinizado. O tempo de jejum de 2h foi escolhido a fim de não induzir estresse por separação materna na prole nos dias pós-natais 1 e 7 (SHIRAHATA; TANG; KOSTUK, 2015). Além disso, os filhotes de 1 e 7 dias de vida foram mantidos à temperatura constante de 37 °C para evitar hipotermia (SHURTLEFF; TOBACH, 1979; WOOD; POOLE; KARPLUS, 2003).

A aferição dos níveis de glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL e ureia se deu pela utilização de kits comerciais conforme instrução do fabricante (LabTest, São Paulo, Brasil). Os níveis de colesterol LDL foram calculados pela fórmula de Friedewald (KNOPFHOLZ et al., 2014).

Anexo II: Resultados suplementares

A suplementação materna com naringina induziu o aumento da glicose e redução dos níveis de ureia no plasma materno

No dia pós-natal 1, a glicemia das ratas suplementadas com naringina durante a terceira semana de gestação estava aumentada em relação às ratas controle [$X^2(1) = 15,03$; $p < 0,001$] (Figura 10a). Ao contrário do observado nos níveis de glicose plasmática, a concentração de ureia encontrou-se reduzida no grupo naringina [$X^2(1) = 8,70$; $p = 0,003$] (Figura 10f), porém, nenhuma outra alteração nos marcadores metabólicos foi detectada nessa idade [Triglicerídeos:

$X^2 (1) = 0,71; p = 0,401$; Colesterol total: $X^2 (1) = 0,57; p = 0,450$; HDL: $X^2 (1) = 0,42; p = 0,518$; LDL: $X^2 (1) = 0,06; p = 0,803$]. Além disso, quando analisados os mesmos parâmetros no dia pós-natal 7 [Glicose: $X^2 (1) = 3,50; p = 0,061$; Triglicerídeos: $X^2 (1) = 0,02; p = 0,902$; Colesterol total: $X^2 (1) = 0,05; p = 0,819$; HDL: $X^2 (1) = 0,01; p = 0,933$; LDL: $X^2 (1) = 0,09; p = 0,716$; Ureia: $X^2 (1) = 1,09; p = 0,296$] e dia pós-natal 21 [Glicose: $X^2 (1) = 0,04; p = 0,834$; Triglicerídeos: $X^2 (1) = 2,98; p = 0,084$; Colesterol total: $X^2 (1) = 0,16; p = 0,689$; HDL: $X^2 (1) = 0,02; p = 0,891$; LDL: $X^2 (1) = 0,47; p = 0,492$; Ureia: $X^2 (1) = 0,03; p = 0,870$], nenhuma diferença significativa foi observada entre as ratas suplementadas e as ratas controle (Figura 10).

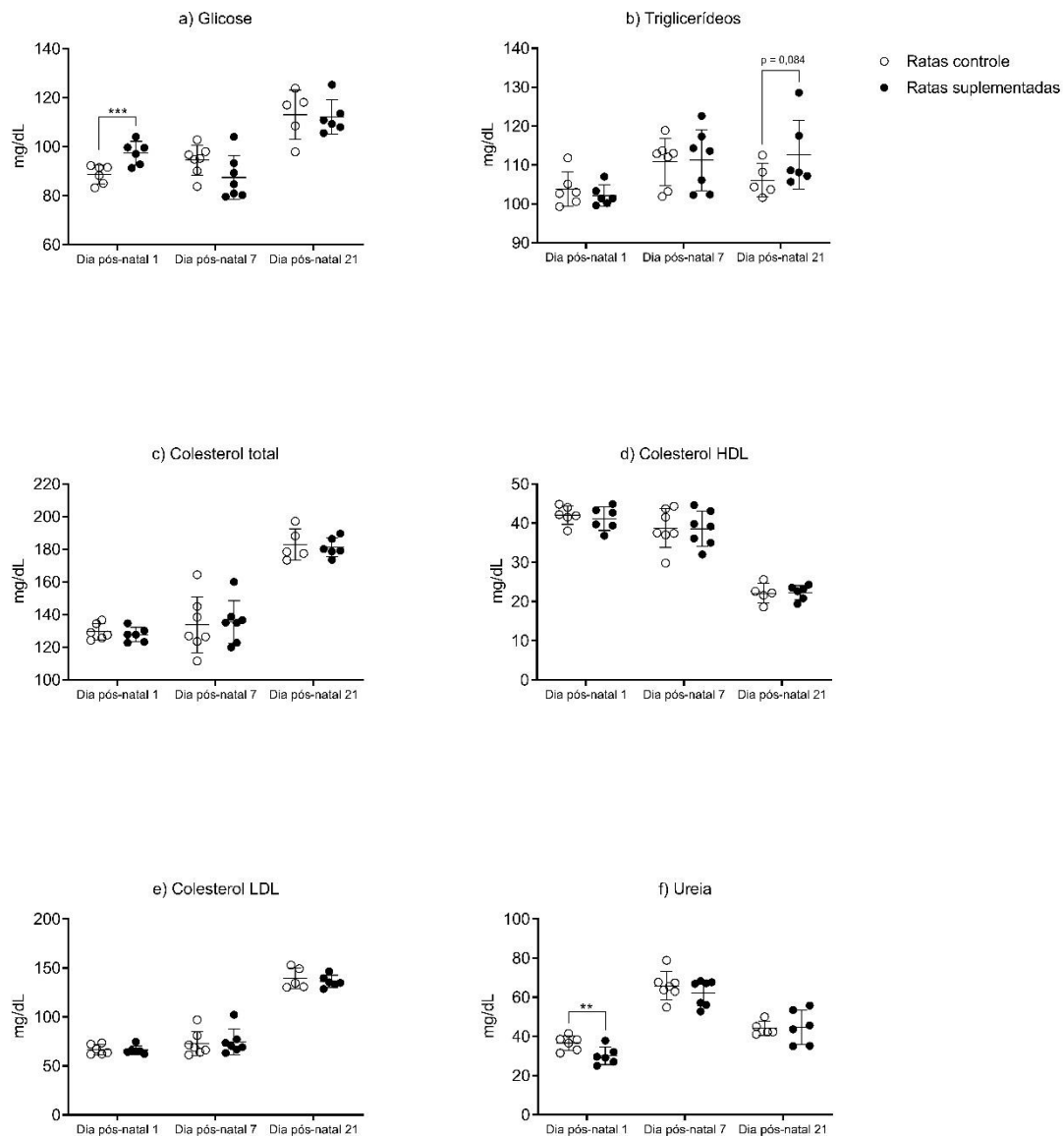


Figura 10: Efeito da suplementação materna com naringina durante a terceira semana de gestação sobre os níveis de (a) glicose, (b) triglicerídeos, (c) colesterol total, (d) colesterol HDL, (e) colesterol LDL e (f) ureia no plasma das ratas Wistar prenhas durante o desenvolvimento pós-natal da prole. Dados expressos como média \pm desvio padrão (n = 4-6). Equação de estimação generalizada de um fator (suplementação com naringina). ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

À exposição pré-natal à naringina aumentou o colesterol total e colesterol HDL apenas aos 21 dias de vida da prole

Quando analisado o perfil metabólico plasmático na prole, observamos que a suplementação materna aumentou o colesterol total de ambos machos e fêmeas três semanas após o desmame [$X^2(1) = 4,12; p = 0,042$] (Figura 11c), efeito que foi acompanhado pelo aumento do colesterol HDL [$X^2(1) = 10,05; p = 0,002$] (Figura 11d) na mesma idade e de forma independente do sexo [Colesterol total: $X^2(1) = 0,74; p = 0,387$; HDL: $X^2(1) = 0,07; p = 0,935$] ou interação entre os fatores [Colesterol total: $X^2(1) = 0,06; p = 0,941$; HDL: $X^2(1) = 0,72; p = 0,393$]. Apesar das alterações nos níveis de colesterol total e HDL terem sido observadas aos 21 dias, não foram encontradas nenhuma outra alteração relacionada à suplementação materna com naringina no dia pós-natal 1, 7 e 21, conforme descritos na tabela 3 e apresentados na figura 11.

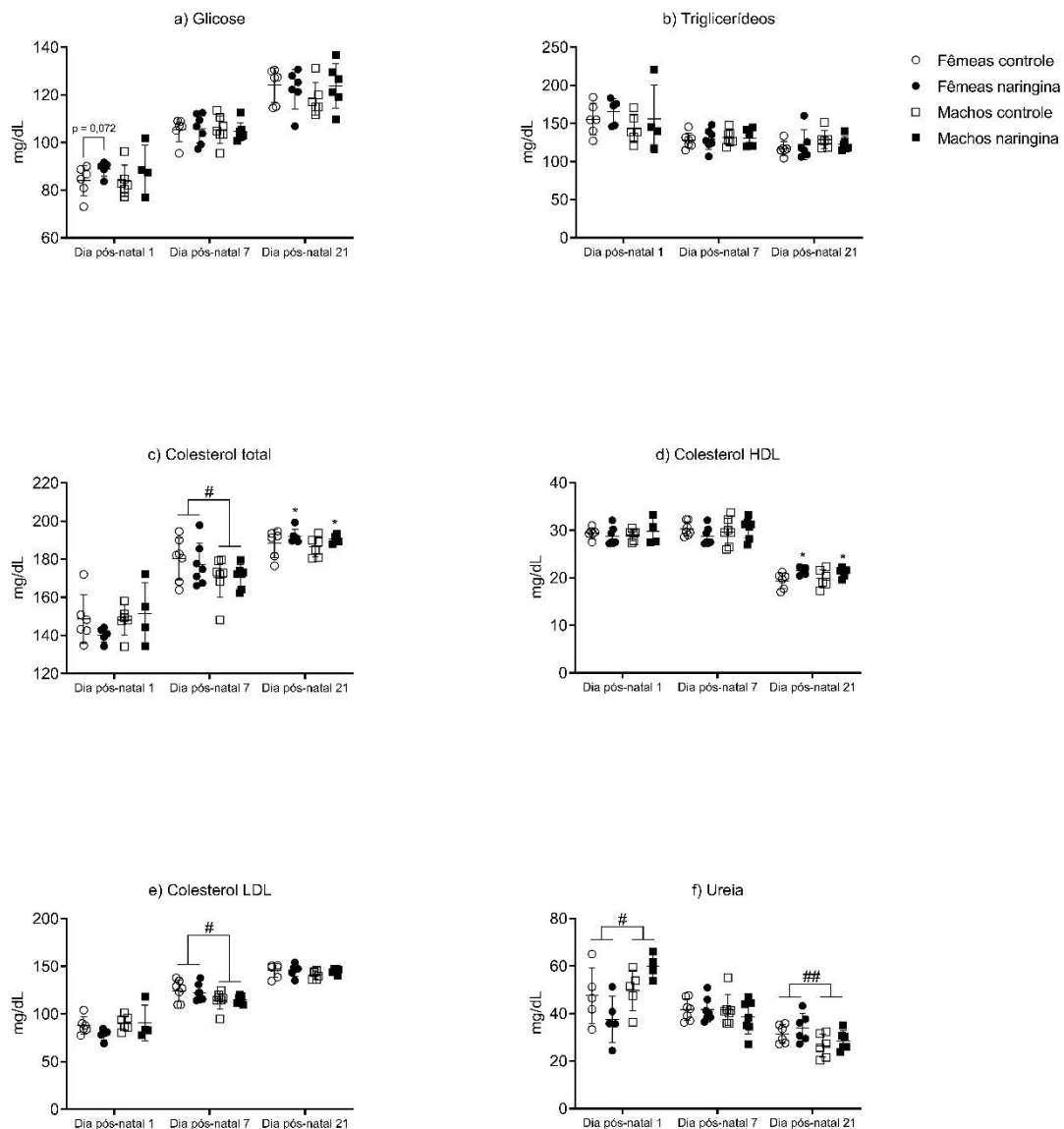


Figura 11: Efeito da suplementação materna com naringina durante a terceira semana de gestação sobre os níveis de (a) glicose, (b) triglicerídeos, (c) colesterol total, (d) colesterol HDL, (e) colesterol LDL e (f) ureia no plasma da prole durante o desenvolvimento pós-natal. Dados expressos como média \pm desvio padrão ($n = 4-6$). Equação de estimação generalizada de dois fatores (suplementação materna e sexo) seguida pelo pós-teste de Sydak quando

interação significativa. * representam o efeito do fator suplementação. # representam efeito do fator sexo. * $p < 0,05$; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$.

Tabela 3: Dados estatísticos obtidos após a análise dos valores das análises metabólicas do plasma da prole de ratas Wistar submetidas ao modelo de suplementação materna com naringina.

Dia pós-natal 1			
Variável independente ou interação	X² de Wald	gl	p valor
Glicose			
Suplementação	3,231	1	0,072
Sexo	0,005	1	0,945
Interação	0,002	1	0,961
Triglicerídeos			
Suplementação	1,352	1	0,245
Sexo	1,251	1	0,263
Interação	0,041	1	0,839
Colesterol total			
Suplementação	0,378	1	0,538
Sexo	1,668	1	0,197
Interação	2,035	1	0,154
Colesterol HDL			
Suplementação	0,000	1	0,997
Sexo	0,271	1	0,602
Interação	1,405	1	0,236
Colesterol LDL			
Suplementação	1,577	1	0,209
Sexo	3,495	1	0,062
Interação	1,638	1	0,201
Ureia			
Suplementação	1,884	1	0,170
Sexo	4,229	1	0,040
Interação	4,229	1	0,040
Dia pós-natal 7			
Variável independente ou interação	X² de Wald	gl	p valor
Glicose			
Suplementação	0,141	1	0,708
Sexo	0,027	1	0,869
Interação	0,670	1	0,413
Triglicerídeos			

Suplementação	0,025	1	0,875
Sexo	0,180	1	0,672
Interação	0,226	1	0,635
Colesterol total			
Suplementação	0,123	1	0,726
Sexo	5,173	1	0,023
Interação	0,265	1	0,607
Colesterol HDL			
Suplementação	0,249	1	0,618
Sexo	0,577	1	0,447
Interação	2,469	1	0,116
Colesterol LDL			
Suplementação	0,059	1	0,807
Sexo	8,223	1	0,004
Interação	0,103	1	0,748
Ureia			
Suplementação	0,561	1	0,454
Sexo	0,645	1	0,422
Interação	0,540	1	0,462
Dia pós-natal 21			
Variável independente ou interação	X² de Wald	gl	p valor
Glicose			
Suplementação	0,389	1	0,533
Sexo	0,540	1	0,462
Interação	1,433	1	0,231
Triglicerídeos			
Suplementação	0,001	1	0,980
Sexo	1,710	1	0,191
Interação	1,308	1	0,253
Colesterol LDL			
Suplementação	1,186	1	0,276
Sexo	2,038	1	0,153
Interação	0,708	1	0,400
Ureia			
Suplementação	1,745	1	0,186
Sexo	8,339	1	0,004
Interação	0,016	1	0,900

A suplementação materna com naringina modificou a massa e potencial de membrana mitocondrial da prole de forma sexo-dependente durante o período perinatal

No dia pós-natal 1, foram detectados efeitos do fator suplementação [$X^2(1) = 12,554$; $p < 0,001$] e sexo [$X^2(1) = 19,894$; $p < 0,001$] sobre a massa e $\Delta\Psi_m$ na prole nascida de ratas suplementadas com naringina. No entanto, também foi observada uma interação entre ambos os fatores [$X^2(1) = 5,279$; $p = 0,022$], onde apenas os machos do grupo naringina apresentaram maior massa e potencial de membrana quando comparados aos machos do grupo controle (Figura 12a), efeito que não foi acompanhado de alteração nos níveis de mO_2^- [Suplementação: $X^2(1) = 0,024$; $p = 0,877$; Sexo: $X^2(1) = 0,162$; $p = 0,687$; Interação: $X^2(1) = 2,204$; $p = 0,138$] (Figura 15b). Além disso, nessa mesma idade, as fêmeas controle apresentaram maiores níveis de massa e $\Delta\Psi_m$ quando comparadas aos machos controle (Figura 12a).

Já no dia pós-natal 7, ocorreu outra interação entre os fatores [$X^2(1) = 8,849$; $p = 0,003$], no entanto, nessa idade o efeito observado nos machos não persistiu, e foi detectada uma redução da massa e $\Delta\Psi_m$ nas fêmeas naringina em relação às fêmeas controle (Figura 12a). Além disso, as fêmeas controle apresentaram maiores níveis de massa e $\Delta\Psi_m$ quando comparadas aos machos controle (Figura 12a) [Suplementação: $X^2(1) = 1,892$; $p = 0,169$; Sexo: $X^2(1) = 7,507$; $p = 0,006$]. Também aos 7 dias pós-natais foi detectada uma outra interação entre os fatores [$X^2(1) = 7,100$; $p = 0,008$], demonstrando uma diferença significativa no pós-teste de Sidak apenas entre as fêmeas controle e machos controle (Figura 12b), sem alterações nos fatores isolados [Suplementação: $X^2(1) = 1,051$; $p = 0,305$; Sexo: $X^2(1) = 2,014$; $p = 0,156$].

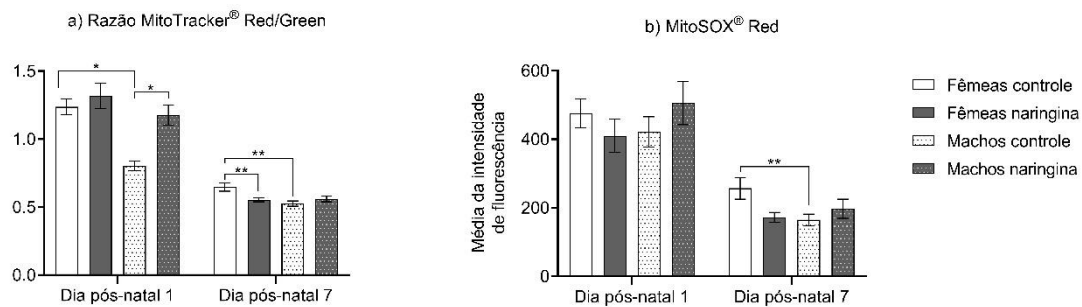


Figura 12: Efeito da suplementação materna com naringina durante a terceira semana de gestação sobre a (a) razão MitoTracker® Red/Green e (b) conteúdo de superóxido mitocondrial no cerebelo da prole durante o período perinatal. Dados expressos como média \pm desvio padrão ($n = 8-10$). Equação de estimação generalizada de dois fatores (suplementação materna e sexo) seguida pelo pós-teste de Sydak quando interação significativa. * sobre as linhas representam as comparações múltiplas significativas pelo pós-teste de Sydak. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Anexo III: Outras produções realizadas durante o período do doutorado e relacionadas à temática da tese

Título: Chapter 20 – Naringin and Naringenin in Neuroprotection and Oxidative Stress.

Autores: Pauline Maciel August e Bernardo Gindri dos Santos.

Formato de publicação: Capítulo de livro.

Título do livro: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants in Neurological Diseases.

Editora: Academic Press.

Status: Publicado.

DOI: 10.1016/B978-0-12-817780-8.00020-7

Anexo IV: Carta de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul



U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 35332

Título: AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO PRÉ-NATAL COM NARINGINA DURANTE A TERCEIRA SEMANA DE GESTAÇÃO SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E COMPORTAMENTAIS NA PROLE DE RATAS WISTAR

Vigência: 16/05/2018 à 28/02/2022

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

CRISTIANE MATTE - coordenador desde 16/05/2018
Bernardo Gindri dos Santos - Aluno de Doutorado desde 16/05/2018

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 434 fêmeas prenhes (ratas Wistar) de 90 dias provenientes do CREAL e 1216 filhotes provenientes dessas fêmeas prenhes; de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Quinta-Feira, 5 de Julho de 2018

MARCELO MELLER ALIEVI
Coordenador da comissão de ética