



ESTRESSE OXIDATIVO E ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NO HIPOCAMPO DA PROLE DE RATAS HIPERGLICÊMICAS

OXIDATIVE STRESS AND HIPPOCAMPAL MORPHOLOGICAL ALTERATIONS IN THE OFFSPRING OF HYPERGLYCEMIC RATS

Fernanda Naves Araújo do Prado MASCARENHAS^{1,2}, Maria Tereza Resende de OLIVEIRA³, Luiz Felipe Fernandes PEIXOTO⁴, Renner Mateus Francisco DUARTE⁵, Natália Ferreira da SILVA⁶, Renata Roland TEIXEIRA⁷, Foued Salmen ESPÍNDOLA², Daniele Lisboa RIBEIRO⁸, Renata Graciele ZANON⁸

¹Pós-Doutoranda na Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, Brasil

²Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, Brasil

³Programa de Pós-Graduação (Mestranda) em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas, Instituto de Ciências Biomédicas, UFU, Uberlândia-MG, Brasil

⁴Programa de Pós-Graduação (Doutorando) em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, Brasil

⁵Programa de Pós-Graduação (Doutorando) em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió-AL, Brasil

⁶Programa de Pós-Graduação (Doutoranda) em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, Brasil

⁷Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, Brasil

⁸Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, Brasil

Autor correspondente:

Renata Graciele Zanon

rezanon@ufu.br

Como citar: Mascarenhas FNAP, Oliveira MTR, Peixoto LFF, Duarte RMF, Silva NF, Teixeira RR, Espíndola FS, Ribeiro DL, Zanon RG. Estresse oxidativo e alterações morfológicas no hipocampo da prole de ratas hiperglicêmicas. *Biosciences and Health*. 2026; 04:1-14. <https://doi.org/10.62331/2965-758X.v4.2026.88>

RESUMO

O diabetes mellitus gestacional expõe o feto a um ambiente hiperglicêmico capaz de comprometer o desenvolvimento do sistema nervoso central, especialmente do hipocampo, estrutura altamente suscetível ao estresse oxidativo e às alterações morfológicas. O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações morfológicas e os marcadores de estresse oxidativo no hipocampo da prole de ratas expostas à hiperglicemia durante a gestação. Ratas Wistar tiveram hiperglicemia induzida por estreptozotocina no quinto dia de gestação. Os hipocampus da prole foram coletados aos 7, 30 e 90 dias de vida para análises morfológicas e bioquímicas, incluindo a avaliação do equilíbrio redox. Os dados foram submetidos à análise estatística apropriada. As ratas hiperglicêmicas apresentaram hiperglicemia persistente durante a gestação, sem diferença expressiva na evolução da massa corporal em relação ao grupo controle. A prole exibiu menor índice de massa corporal, alterações morfológicas persistentes nos subcampos do hipocampo em todas as idades avaliadas, aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, redução da capacidade antioxidante total e diminuição da atividade da superóxido dismutase. Além disso, observou-se redução da ativação da caspase-3 aos 30 e 90 dias de idade. Conclui-se que a hiperglicemia

materna promove alterações morfológicas persistentes e comprometimento da capacidade antioxidante do hipocampo da prole, evidenciando que a exposição intrauterina ao ambiente hiperglicêmico interfere no desenvolvimento neural e mantém repercussões até a idade adulta em ratos.

Palavras-chave: Diabetes; Hipocampo; Morfologia; Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Gestational diabetes mellitus exposes the fetus to a hyperglycemic environment, which can compromise central nervous system development, particularly the hippocampus, a structure highly susceptible to oxidative stress and morphological alterations. This study aimed to assess morphological alterations and oxidative stress markers in the hippocampus of offspring from rats subjected to maternal hyperglycemia during gestation. Wistar rats were subjected to streptozotocin-induced hyperglycemia on the fifth day of gestation. Hippocampi of the offspring were harvested at 7, 30, and 90 days of age to perform morphological and biochemical analyses, including the assessment of redox balance. Data were analyzed using appropriate statistical methods. The hyperglycemic rats exhibited persistent hyperglycemia during pregnancy, without any significant difference in body mass progression compared to the control group. Their offspring exhibited a lower body mass index, persistent morphological alterations in hippocampal subfields at all ages evaluated, increased production of reactive oxygen species, reduced total antioxidant capacity, and decreased superoxide dismutase activity. Furthermore, reduced caspase-3 activation was observed at 30 and 90 days of age. In conclusion maternal hyperglycemia promotes persistent morphological alterations and impairs the antioxidant capacity of the offspring's hippocampus, demonstrating that intrauterine exposure to a hyperglycemic environment interferes with neural development and leads to lasting repercussions in adulthood.

Keywords: Diabetes; Hippocampus; Morphology; Oxidative stress.

1. Introdução

O diabetes mellitus gestacional (DMG) é definido como qualquer grau de intolerância à glicose com início ou primeiro diagnóstico durante a gestação. Essa condição geralmente é identificada entre a 24ª e a 28ª semana de idade gestacional, período em que as alterações metabólicas da gravidez se tornam mais evidentes. Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde [1], o DMG representa uma das complicações mais frequentes da gestação. Sua prevalência pode variar conforme a população estudada, os métodos de rastreamento e os critérios diagnósticos utilizados. No Brasil, verificou-se um aumento expressivo dessa prevalência, que na década de 1990 variava entre 2,4% e 7,2% [2], alcançando aproximadamente 14% em 2021, percentual superior à média global [3].

Durante a gravidez, o organismo materno passa por diversas adaptações fisiológicas, envolvendo os sistemas cardiovascular, renal, hematológico, respiratório e metabólico. Entre essas modificações, destaca-se o aumento da sensibilidade à insulina no início da gestação, o que favorece a captação de glicose pelos adipócitos e contribui para atender à maior demanda energética decorrente do desenvolvimento fetal [4]. No entanto, à medida que a gestação progride, ocorre aumento de hormônios placentários e maternos, como progesterona, estrogênio, leptina, cortisol, lactogênio placentário, prolactina e hormônio do crescimento placentário, os quais favorecem um estado fisiológico de resistência à insulina. Embora esse processo seja esperado durante a gravidez, nos casos de DMG observa-se também disfunção das células β pancreáticas, o que desestabiliza ainda mais a homeostase glicêmica [5].

Embora o DMG seja considerado uma condição transitória, com tendência à resolução após o puerpério, sua ocorrência é capaz de aumentar o risco de desenvolvimento posterior de diabetes mellitus

tipo 2 (DM2) e de doenças cardiovasculares crônicas. Além disso, predispõe a complicações maternas, como polidrâmnio, pré-eclâmpsia, hipertensão gestacional e intercorrências no parto [5]. As repercussões também podem atingir o feto, incluindo maior risco de nascimento prematuro, hipóxia fetal e morte intrauterina. A gravidade dessas complicações depende, principalmente, do tempo de exposição ao ambiente hiperglicêmico e da intensidade da elevação glicêmica [6]. Ademais, a exposição intrauterina à hiperglicemia pode repercutir na infância, adolescência e vida adulta da prole, aumentando a predisposição ao desenvolvimento de obesidade, DM2, hipertensão arterial, síndrome metabólica, doenças cardiovasculares e alterações hepáticas [7].

Dentre os diferentes sistemas afetados pelo ambiente hiperglicêmico intrauterino, o sistema nervoso central (SNC) merece destaque, devido à elevada vulnerabilidade do tecido neural aos efeitos da neuroinflamação e do estresse oxidativo. Esses processos alteram a organização morfológica cerebral e interferem em funções cognitivas, como atenção, aprendizagem e memória [8]. Sob essa perspectiva, o hipocampo constitui uma região de grande relevância, pois integra o sistema límbico e está diretamente envolvida na regulação do comportamento, na aprendizagem e na consolidação da memória.

A formação hipocampal é composta pelo *Cornu Ammonis* (CA), pelo giro denteado (GD) e pelo subículo. Essa estrutura subcortical, localizada no lobo temporal, caracteriza-se por elevada atividade metabólica, intensa plasticidade neuronal e desenvolvimento prolongado. Essas características tornam o hipocampo especialmente suscetível a desequilíbrios homeostáticos, como o excesso de glicose no organismo [9]. Anatomicamente, o CA é subdividido em CA1, CA2, CA3 e, em algumas classificações, CA4. O CA4, embora muitas vezes considerado parte do GD, localiza-se na transição entre essa estrutura e o CA3. Da cavidade ventricular ao sulco do hipocampo, o CA pode ser organizado em diferentes camadas, incluindo o *alveus*, o estrato *oriens* (composto por axônios e interneurônios inibitórios), o estrato piramidal (camada mais espessa, onde estão presentes os corpos celulares dos neurônios piramidais), o estrato *radiatum* (que recebe sinapses das colaterais de Schaffer, axônios de CA3 que fazem sinapse em CA1), o estrato lacunoso (zona de entrada do córtex entorrinal) e o estrato molecular (presente também no GD e separado deste pelo sulco hipocampal) [10].

O GD, por sua vez, representa uma das principais portas de entrada de informações para o hipocampo. Suas células granulares enviam projeções para a região CA3 e participam de processos que sustentam a neurogênese e a codificação de padrões de memória. Essa estrutura apresenta três camadas: a camada molecular, localizada mais externamente e composta por dendritos de células granulares, interneurônios inibitórios e fibras aferentes do córtex entorrinal; a camada granulosa, que abriga os corpos celulares das células granulares; e a camada polimórfica, também denominada hilus, composta por células musgosas e interneurônios inibitórios. Já o subículo atua como a principal via de saída do hipocampo, estabelecendo conexões com o córtex entorrinal, o núcleo *accumbens* e o tálamo [10].

Corroborando a vulnerabilidade do hipocampo às alterações metabólicas, Moran e colaboradores [11] identificaram atrofia hipocampal em cérebros humanos expostos ao ambiente hiperglicêmico, além de lesões na substância branca e presença de infartos. Esses achados foram acompanhados por déficits de memória e aprendizagem. Durante a gestação, evidências indicam que a hiperglicemia compromete o desenvolvimento hipocampal, reduzindo a manutenção da plasticidade sináptica e prejudicando a formação da memória [12].

Diante desse cenário, torna-se necessária a investigação dos efeitos da hiperglicemia materna sobre estruturas cerebrais envolvidas em funções cognitivas. Assim, o presente estudo teve como objetivo

avaliar as alterações morfológicas e os marcadores de estresse oxidativo no hipocampo da prole de ratas expostas à hiperglicemia durante a gestação, em diferentes fases do desenvolvimento até a idade adulta.

2. Materiais e Métodos

Amostra

Foram utilizados quatro ratos machos e oito fêmeas da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com oito semanas de idade, fase correspondente à maturidade sexual, provenientes da Rede de Biotérios (REBIR) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Todos os procedimentos foram realizados conforme aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais, sob o protocolo CEUA 056/18. Os animais foram alojados em gaiolas de polycarbonato opaco, em ambiente com ventilação controlada e forração de serragem autoclavada. As condições ambientais foram mantidas com temperatura entre 18 e 22 °C, umidade relativa entre 45% e 55% e ciclo luminoso de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Os animais receberam ração comercial e água potável *ad libitum*.

Para o acasalamento, fêmeas nulíparas foram colocadas nas gaiolas dos machos, na proporção de duas fêmeas para cada macho, permanecendo juntas durante o período noturno. Na manhã seguinte, as fêmeas foram separadas dos machos e submetidas ao lavado vaginal. A leitura foi realizada imediatamente em microscópio óptico de luz, com aumento de 200×. A presença de espermatozoides nas lâminas foi considerada indicativa do primeiro dia de gestação (G1).

Indução da lesão pancreática e grupos experimentais

Foram obtidas oito fêmeas prenhas. No quarto dia de gestação (G4), todas foram submetidas a jejum de 24 horas. No quinto dia de gestação (G5), quatro fêmeas receberam injeção intraperitoneal de tampão citrato (0,01 M; pH 4,0), enquanto as demais receberam tampão citrato contendo estreptozotocina (STZ; 50 mg/kg; Santa Cruz Biotechnology), para indução de lesão das células β pancreáticas. Decorridas 48 horas (G7), as fêmeas prenhas foram submetidas a jejum de oito horas e, em seguida, uma gota de sangue foi coletada da cauda para determinação da glicemia, utilizando-se glicosímetro ContourPlus®. Foram consideradas hiperglicêmicas as ratas com glicemia de jejum ≥ 200 mg/dL. Dessa forma, foram constituídos dois grupos maternos: grupo controle (CT), constituído por ratas normoglicêmicas ($n = 4$), e grupo hiperglicêmico (HG), constituído por ratas hiperglicêmicas ($n = 4$).

Antes do acasalamento, no período pré-gestacional, e durante a gestação, nos dias G7 e G17, as fêmeas foram acompanhadas quanto à glicemia, por meio do glicosímetro ContourPlus®, e quanto à massa corporal, mensurada em gramas com balança eletrônica KERN. Após o nascimento, os filhotes também foram avaliados quanto ao peso corporal, à glicemia e ao comprimento nasoanal, nas idades de 7, 30 e 90 dias.

Após atingirem as idades de 7, 30 e 90 dias, os filhotes foram submetidos à eutanásia, iniciada com overdose anestésica composta por cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina (1:1; 0,2 mL/100 g), administrada por via intraperitoneal. Em cada idade avaliada, cada grupo foi composto por 12 animais, sendo três filhotes provenientes de cada mãe. Assim, foram constituídos o grupo CT, formado por filhotes de mães normoglicêmicas, e o grupo HG, formado por filhotes de mães hiperglicêmicas, nas idades de 7, 30 e 90 dias de vida.

Processamento histológico e análise morfológica

Após a eutanásia, metade dos animais de cada grupo ($n = 6$ por idade) foi submetida à toracotomia

para perfusão transcardíaca com 5–20 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS; 0,01 M; pH 7,4) e, posteriormente, com 5–20 mL de solução fixadora de formaldeído a 3,8% em PBS. Na sequência, os cérebros foram extraídos e encaminhados para processamento histológico.

Os tecidos permaneceram por 48 horas em solução fixadora a 4 °C e, posteriormente, foram submersos em soluções de sacarose em concentrações crescentes (10%, 20% e 30%), para desidratação e crioproteção. Após 72 horas, os tecidos foram incluídos em Tissue-Tek® e congelados em isopentano resfriado a –40 °C em nitrogênio líquido. Em seguida, foram armazenados em freezer a –20 °C até a obtenção dos cortes histológicos em criostato (Leica). Foram realizados cortes frontais seriados de 10 µm de espessura. Para a localização do hipocampo, utilizou-se o atlas cerebral de ratos de Paxinos e Watson [13].

Os cortes foram transferidos para lâminas de vidro, corados pelo método de Nissl e montados com lamínula. Posteriormente, foram fotografados em microscópio óptico de luz (Nikon Eclipse-TSi), com aumento de 40×, e analisados no *software ImageJ*. As análises morfométricas foram realizadas por meio da mensuração das camadas do *Stratum oriens*, do CA, subdividido nas regiões CA1, CA2 e CA3, do *Stratum radiatum* e do GD, composto pelas camadas molecular, granular e polimórfica, em ambos os grupos e nas diferentes idades, conforme demonstrado na Figura 1.

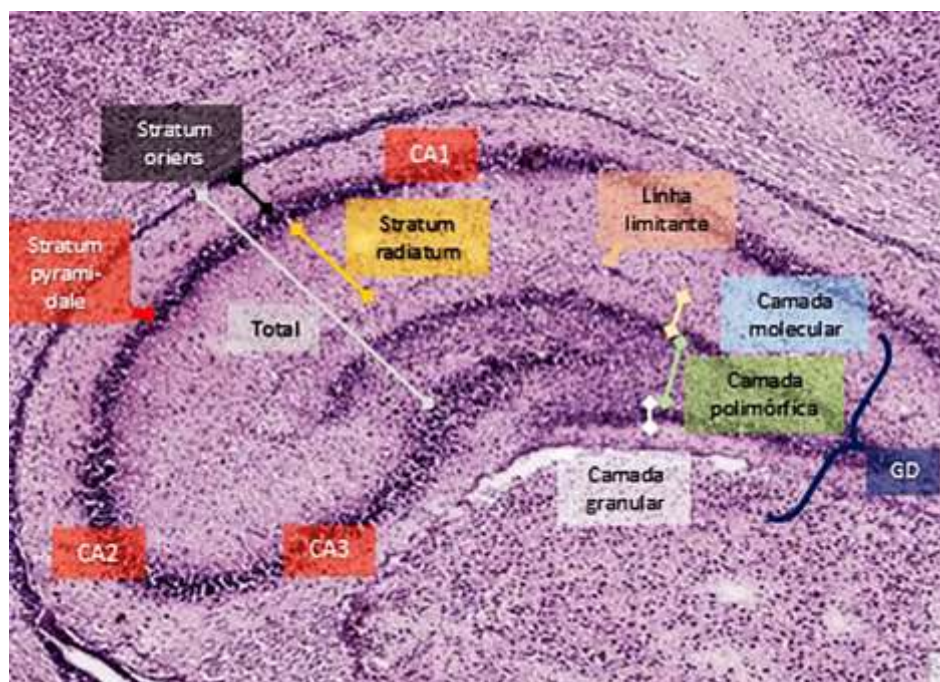


Figura 1. Fotomicrografia do hipocampo de rato mostrando as subáreas e camadas analisadas. Total; *Stratum oriens*; *Stratum radiatum*; *Stratum pyramidale* e suas subáreas *Cornu Ammonis* (CA1, CA2 e CA3); Giro denteado (GD) e suas subcamadas molecular, granular e polimórfica 100x.

Extração proteica e análises bioquímicas

A outra metade dos animais de cada grupo (n = 6 por idade) teve os encéfalos extraídos a fresco. Os hipocampus foram dissecados e submetidos à extração de proteínas totais com tampão RIPA (0,01 M; pH 7,4), com auxílio de homogeneizador. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas sob refrigeração (800 × g por 15 minutos, a 4 °C), e os sobrenadantes foram separados. A quantificação de proteínas totais foi realizada pelo método de Bradford, mediante leitura da absorbância em leitor de ELISA (Perkin-Elmer LS 55), a 595 nm. Os dados obtidos foram organizados em planilhas eletrônicas (Excel) para normalização dos demais testes.

As amostras de proteínas totais foram submetidas à quantificação de caspase-3 ativada para avaliação de morte celular. Essa análise foi realizada apenas nos filhotes de 30 e 90 dias de idade, devido ao volume tecidual insuficiente dos animais com 7 dias. A atividade proteolítica da caspase-3 foi mensurada por fluorimetria, utilizando-se o kit EnzChek® Caspase-3 Assay, conforme as especificações do fabricante (Thermo Fisher Scientific).

Nos animais com 90 dias de idade, também foi avaliado o equilíbrio redox. Para esse propósito, foram analisadas a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), a atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP) e a atividade do sistema antioxidante enzimático, incluindo a superóxido dismutase (SOD) e enzimas relacionadas ao sistema da glutatona (G6PDH, GR e GPx).

Para determinação dos níveis de ROS, os homogeneizados foram incubados com diacetato de dicloro-dihidro-fluoresceína (10 μ M) e tampão Tris-HCl (5 mM; pH 7,4) por três minutos. Em seguida, a fluorescência foi mensurada em microplacas de 96 poços, em leitor de ELISA (Perkin-Elmer LS 55), a 530 nm.

A capacidade antioxidante total foi determinada pelo método FRAP, baseado no potencial antioxidante redutor férrico. Nesse ensaio, os antioxidantes presentes na amostra reduzem Fe^{3+} a Fe^{2+} , que é quelado por 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), formando o complexo Fe^{2+} -TPTZ, de coloração azul intensa. A leitura do complexo colorido foi realizada em espectrofotômetro, a 593 nm. A capacidade antioxidante das amostras foi determinada por meio de curva analítica construída com Trolox como padrão. O Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametacromano-2-carboxílico) é um análogo hidrofílico da vitamina E, utilizado como agente antioxidante padrão.

A atividade da SOD foi avaliada com base na inibição da reação do radical superóxido com o pirogalol. A SOD catalisa a dismutação de dois radicais superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio, sendo considerada uma defesa primária contra o estresse oxidativo. O superóxido é gerado pela autooxidação do pirogalol em meio básico, e a SOD presente na amostra compete com o sistema de detecção pelo radical superóxido. A oxidação do pirogalol gera um composto colorido, detectado em espectrofotômetro a 420 nm. A atividade da SOD foi determinada pela taxa de oxidação do pirogalol, e os resultados foram expressos em unidades de SOD por miligrama de proteína (U/mg). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade capaz de inibir 50% da autooxidação do pirogalol.

Para análise das glutatonas, a atividade da glutatona peroxidase (GPx) foi mensurada a partir da incubação do homogeneizado com tampão GPx, composto por fosfato de potássio 100 mM contendo EDTA 1 mM (pH 7,7), azida sódica (40 mM), GSH diluída em ácido metafosfórico a 5%, GR diluída em tampão GPx, NADPH diluído em bicarbonato de sódio a 5% e terc-butil (0,5 mM). O decréscimo na concentração de NADPH foi avaliado por 10 minutos em espectrofotômetro, a 340 nm. A atividade da glutatona redutase (GR) foi avaliada utilizando glutatona oxidada (GSSG) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) como substratos. Para isso, foram empregados tampão fosfato de sódio (200 mM; pH 7,5), EDTA (6,3 mM), GSSG (1 mM), NADPH (1 mM) e as amostras. O consumo de NADPH foi mensurado a 340 nm por 10 minutos. Uma unidade de GR foi definida como a quantidade necessária para reduzir 1 μ mol de GSSG por minuto, e a atividade específica foi expressa em U/mg de proteína. A atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) foi monitorada pela produção de NADPH, observada pelo aumento da absorbância a 340 nm.

Análise estatística

Os dados numéricos foram inicialmente submetidos ao teste de normalidade. Para os dados com distribuição paramétrica, foi aplicado o teste t de Student não pareado. Para os dados não paramétricos, utilizou-se o teste U de Mann-Whitney. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism 5.0, adotando-se nível de significância de $p \leq 0,05$. Valores de p entre 0,051 e 0,10 foram considerados limítrofes. Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média.

3. Resultados

3.1 Evolução do peso corporal e glicemia das mães e filhotes

Durante a gestação, as ratas dos grupos CT e HG apresentaram aumento progressivo da massa corporal, sem diferenças expressivas entre os grupos (Figura 2A). Entretanto, a avaliação glicêmica demonstrou elevação significativa apenas no grupo HG tratado com STZ, enquanto o grupo CT permaneceu normoglicêmico durante todo o período experimental ($p < 0,0001$) (Figura 2B).

Nos filhotes, o índice de massa corporal (IMC), calculado a partir do peso corporal e do comprimento nasoanal, foi significativamente menor no grupo HG aos 7, 30 e 90 dias de vida quando comparado ao grupo CT ($p < 0,0001$; $p = 0,005$; $p = 0,025$, respectivamente) (Figura 2C). Em relação à glicemia, os filhotes do grupo HG apresentaram valores inferiores aos do grupo CT aos 30 dias ($p = 0,011$) e superiores aos 90 dias ($p = 0,009$). Entretanto, em todas as idades avaliadas, os valores permaneceram dentro da faixa fisiológica para ratos Wistar, abaixo de 135 mg/dL (Figura 2D).

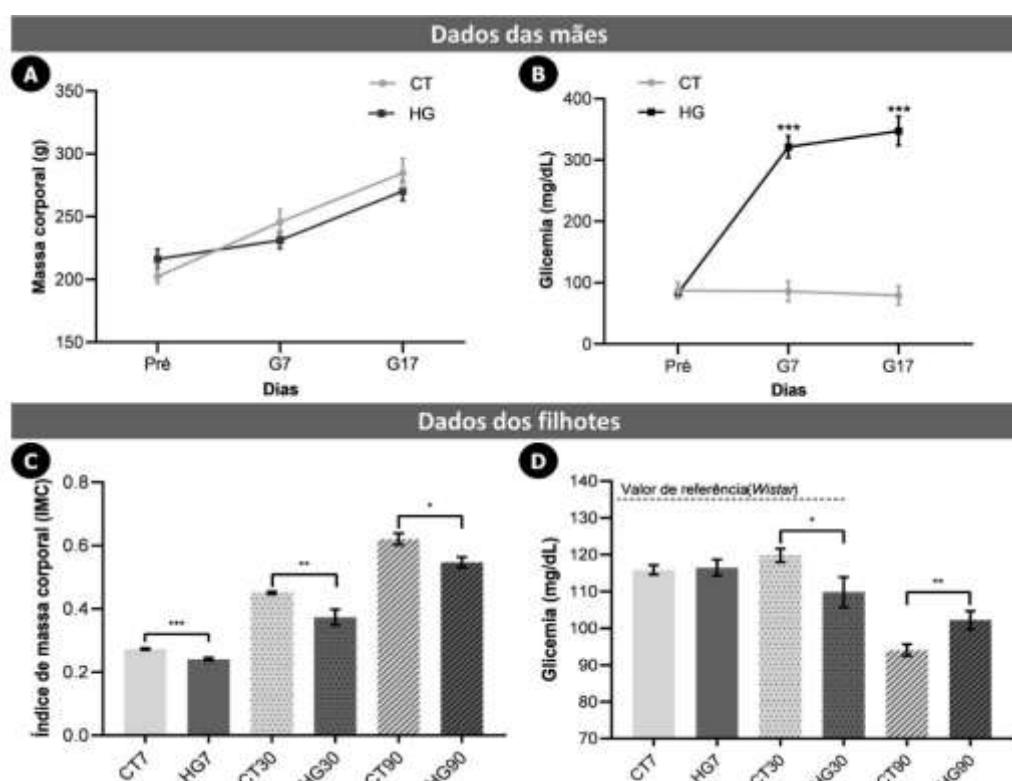


Figura 2. Evolução do peso corporal (g) (A) e da glicemia das mães (mg/dL) (B) nas fases pré-gestacional, no sétimo (G7) e no décimo sétimo (G17) dia gestacional. Evolução do IMC dos filhotes (C) e da glicemia dos filhotes (mg/dL) (D) nas idades de sete (P7), trinta (P30) e noventa (P90) dias de idade. Linhas e barras cinza claro representam o grupo controle (CT) e linhas e barras cinza-escuro representam o grupo hiperglicemia (HG). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$. Teste t de Student não pareado.

3.2 Avaliação morfológica do hipocampo

A análise morfológica evidenciou alterações estruturais no hipocampo da prole exposta ao ambiente hiperglicêmico intrauterino em todas as idades avaliadas. Aos sete dias de vida, observaram-se quedas significativas no *Stratum radiatum* ($p = 0,012$) e no *Stratum pyramidale* da região CA1 ($p = 0,003$) (Figura 3A, D, G, J e M). Aos 30 dias, foram identificadas alterações na camada total ($p = 0,002$), correspondente à distância entre o *Stratum oriens* e a porção média do GD, bem como no *Stratum radiatum* ($p = 0,001$) (Figura 3B, E, H, K e N). Aos 90 dias, persistiram alterações na camada total ($p = 0,028$), no *Stratum radiatum* ($p = 0,006$), no *Stratum pyramidale* da região CA3 ($p = 0,042$) e na camada molecular do GD ($p = 0,002$) (Figura 3C, F, I, L e O).

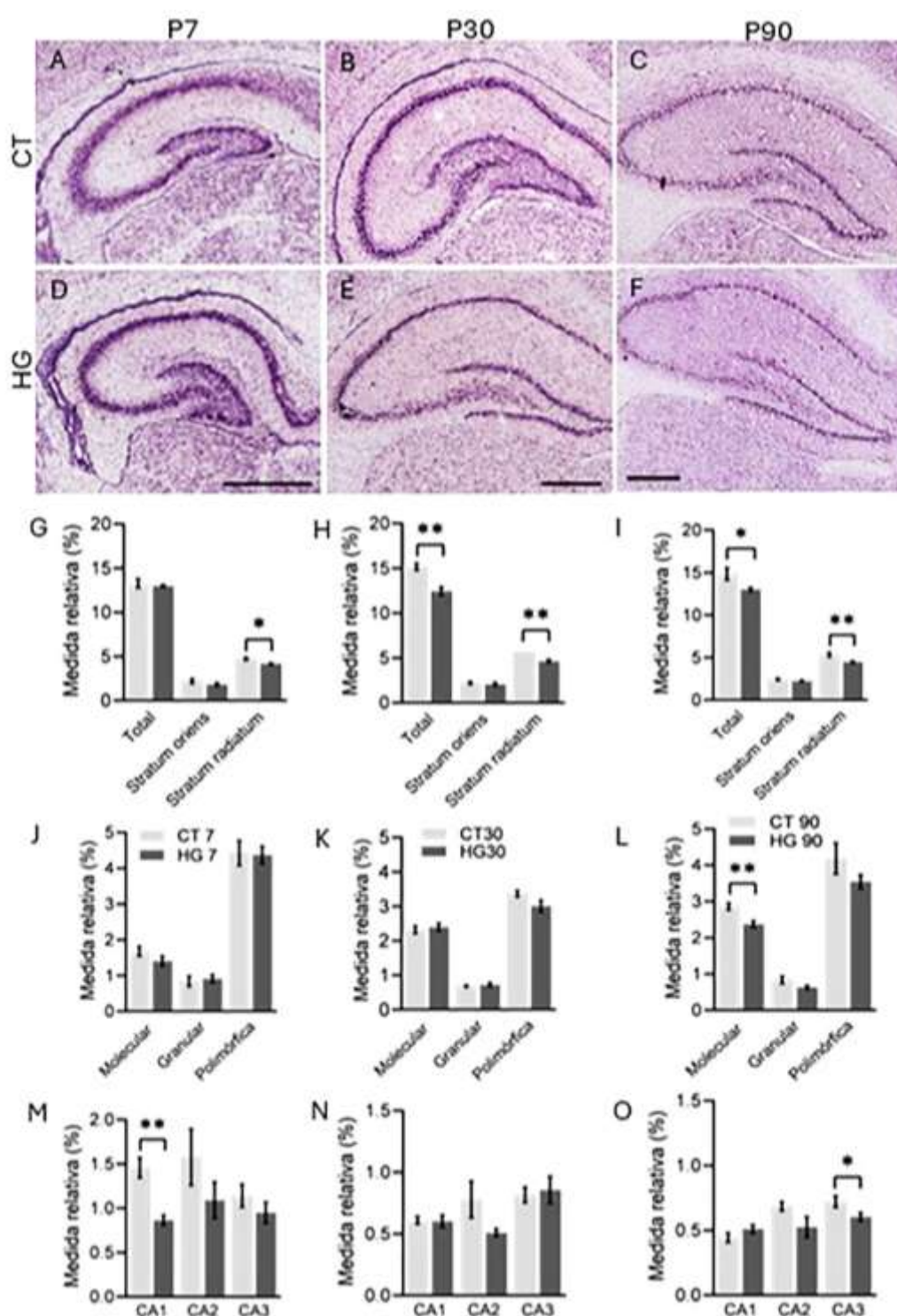


Figura 3. Fotomicrografias do hipocampo de filhotes com (A-D) 7 dias de idade, (B-E) 30 dias de idade, (C-F) 90 dias de

idade. (A, B, C) Fotomicrografias do hipocampo do grupo controle (CT); (D, E, F) Fotomicrografias do hipocampo do grupo hiperglicemia (HG); (G, H, I) Gráficos com análise das camadas Total, *Stratum oriens* (Or) e *Stratum radiatum* do hipocampo dos grupos CT e HG, onde o grupo HG apresentou afinamento na camada de células do *Stratum radiatum* em P7, e na camada de células Total em P30 e P90; (J, K, L) Gráficos com análise das camadas do giro dentado (molecular, granular e polimórfica) do hipocampo dos grupos CT e HG, onde o grupo HG apresentou afinamento na camada molecular em P90; (M, N, O) Gráficos com análise das subáreas do *Stratum pyramidale* (CA1, CA2, CA3) do hipocampo dos grupos CT e HG, onde o grupo HG apresentou afinamento nas camadas de células da subárea CA1 em P7 e CA3 em P90. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$, Teste t de Student não pareado. Escala = 600 μm .

3.3 Aumento de ROS e redução do sistema antioxidante no hipocampo dos filhotes adultos

A Figura 4 apresenta as quantificações da análise do equilíbrio redox no hipocampo de filhotes dos grupos CT e HG aos 90 dias de idade. A atividade oxidante, os antioxidantes e suas respectivas enzimas foram avaliados apenas nessa faixa etária devido ao volume insuficiente de tecido para a realização dos ensaios nas demais idades. Os animais do grupo HG apresentaram maiores níveis de ROS ($p = 0,001$) (Figura 4A). Em relação ao sistema antioxidante, verificou-se diminuição da atividade antioxidante total ($p = 0,0002$) (Figura 4D). Na avaliação das enzimas antioxidantes, apenas a atividade da SOD apresentou diminuição significativa ($p = 0,028$) (Figura 4E), não sendo observadas alterações nas enzimas relacionadas ao sistema da glutatona (GR: $p = 0,48$; G6PDH: $p = 0,42$; GPx: $p = 0,48$) (Figura 4F-H).

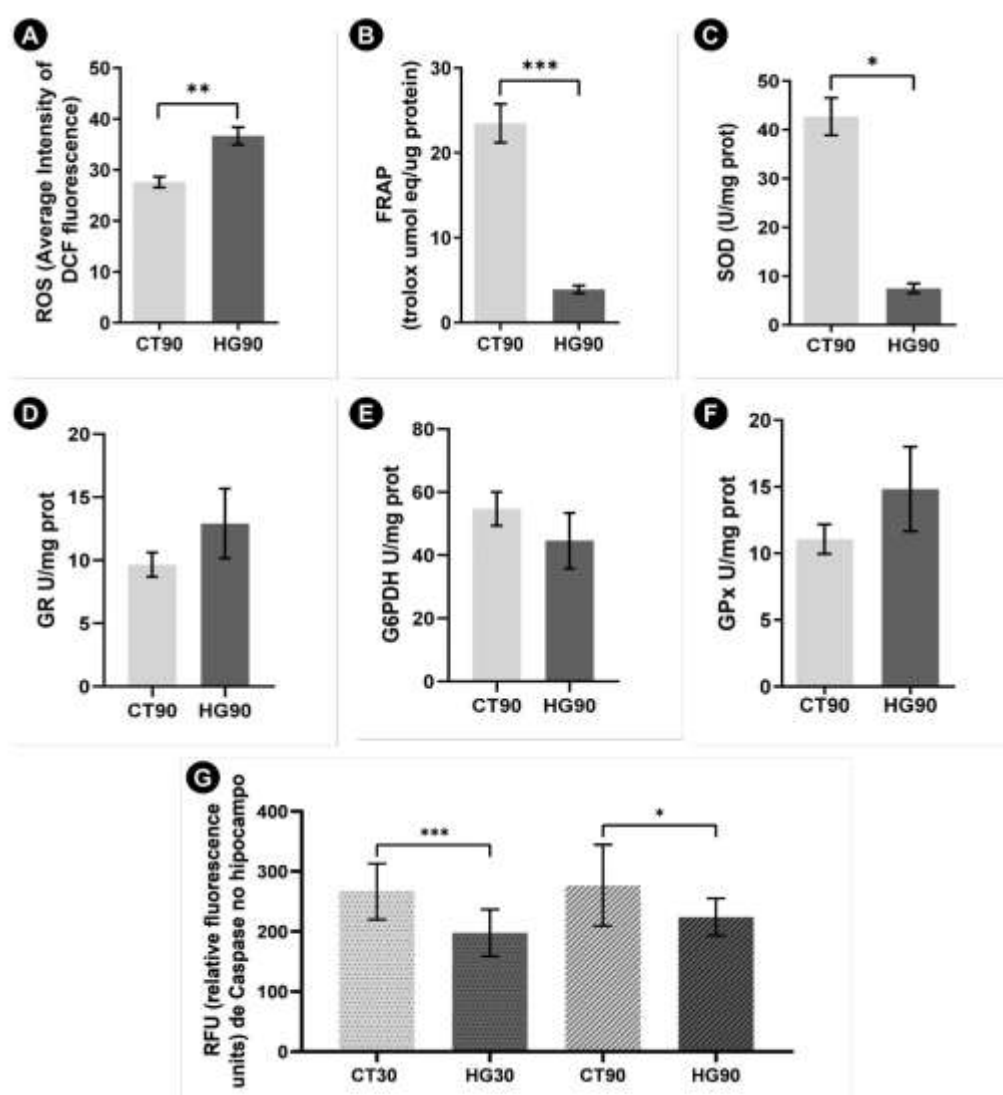


Figura 4. (A-G) Avaliação do balanço redox e da apoptose no hipocampo de filhotes dos grupos controle (CT) e

hiperglicemia (HG). (A) Quantificação de espécies reativas de oxigênio (ROS); (B) atividade antioxidante total pelo método FRAP; (C) atividade da superóxido dismutase (SOD); (D) atividade da glutathione redutase (GR); (E) atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH); (F) atividade da glutathione peroxidase (GPx); (G) avaliação da caspase-3 ativa em extrato proteico de hipocampo de filhotes com 30 e 90 dias de idade. O grupo HG apresentou aumento de ROS, redução da capacidade antioxidante total e diminuição da atividade da SOD, sem alterações significativas nas enzimas do sistema da glutathione. A caspase-3 ativa apresentou redução no grupo HG aos 30 e 90 dias. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$. Teste t de Student não pareado.

3.4 Apoptose no hipocampo dos filhotes jovens e adultos

Os dados obtidos após o ensaio de ativação da caspase-3 (Figura 4G) demonstraram redução da apoptose no grupo HG nas idades P30 ($p = 0,0008$) e P90 ($p = 0,022$), quando comparado ao grupo CT.

4. Discussão

A indução do diabetes por STZ constitui um modelo experimental amplamente estabelecido para o estudo do diabetes mellitus. Esse agente promove a destruição das células β pancreáticas, resultando na elevação da glicemia plasmática. Como consequência, é frequente a perda ponderal, uma vez que o organismo passa a utilizar proteínas e lipídeos como fontes energéticas alternativas por meio do catabolismo [14].

Durante o período gestacional, espera-se incremento fisiológico da massa corporal materna. No presente estudo, embora as ratas hiperglicêmicas tenham apresentado elevação significativa da glicemia após a indução por STZ, não foram observadas diferenças expressivas na evolução da massa corporal materna em relação ao grupo controle. Em relação à prole de mães hiperglicêmicas, o peso ao nascer tende a ser maior ou menor, dependendo da gravidade da hiperglicemia materna [15]. Em seres humanos, quando o controle glicêmico é mantido por meio de intervenção farmacológica, observa-se, em geral, aumento do peso neonatal. Em contrapartida, filhotes com menor peso e tamanho são frequentemente descritos em situações nas quais a hiperglicemia descontrolada induz disfunção placentária, limitando o transporte de nutrientes e restringindo o crescimento intrauterino, o que resulta em restrição do crescimento fetal e baixo peso ao nascer, com repercussões metabólicas e neurológicas em longo prazo [16]. No presente estudo, a prole de ratas expostas à hiperglicemia apresentou IMC significativamente menor em todas as idades avaliadas (7, 30 e 90 dias), quando comparada ao grupo controle, embora os níveis glicêmicos tenham permanecido dentro dos parâmetros de normalidade.

O número de investigações voltadas aos mecanismos que afetam o desenvolvimento neural da prole gestada em ambiente hiperglicêmico ainda é reduzido. Segundo Rosinha et al. [15] e Fasoulakis et al. [16], a severidade das complicações está principalmente vinculada à duração do diabetes e ao grau de controle metabólico da doença. A literatura reconhece que o ambiente hiperglicêmico favorece danos neuronais e disfunções endoteliais, culminando em estresse oxidativo, a liberação de citocinas pró-inflamatórias e aumento do potencial de membrana mitocondrial, fatores capazes de ativar vias deletérias para o SNC, especialmente em regiões vulneráveis, como o hipocampo [17].

Em consonância com esses mecanismos, foram evidenciadas modificações morfológicas na região hipocampal da prole de mães com hiperglicemia. Os filhotes expostos à hiperglicemia apresentaram áreas e camadas hipocampais (CA1, CA3, *Stratum radiatum*, camada molecular do GD e área total) mais delgadas nas idades avaliadas (7, 30 e 90 dias), em comparação aos filhotes de mães normoglicêmicas.

A redução da área CA1 do hipocampo acarreta diversas implicações funcionais, uma vez que essa região desempenha papel crucial na memória, na aprendizagem e em outras funções cognitivas [18].

Trata-se de uma área crítica para a aquisição e recuperação de memórias de longo prazo, de modo que seu declínio funcional pode resultar em dificuldades na retenção de novas informações e na evocação de memórias previamente armazenadas. Somado a isso, a atrofia desse subcampo está associada a condições neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer [19].

O afinamento da região CA3, por sua vez, está intimamente ligado a um maior risco de demência. Estudos indicam que essa região é essencial para a aprendizagem, a memória, as funções executivas e a flexibilidade cognitiva [20]. De acordo com esses achados, modelos computacionais sugerem que esse subcampo esteja envolvido no estabelecimento de novas associações e na integração de elementos de episódios, reforçando sua importância para os processos de aprendizagem [21].

O GD é uma estrutura hipocampal diretamente implicada na neurogênese. A redução de suas camadas é um indicativo de distúrbios emocionais, como ansiedade e depressão, condições frequentemente observadas quando a neurogênese hipocampal se encontra comprometida [22]. Além disso, o GD participa de uma forma específica de plasticidade sináptica denominada potenciação de longa duração, fundamental para a formação de memórias. Essa alteração morfológica pode prejudicar essa plasticidade, contribuindo para déficits cognitivos [23].

Esses animais também evidenciaram sinais de estresse oxidativo, acompanhados por atenuação da atividade do sistema antioxidante e da enzima SOD. O estresse oxidativo constitui um dos principais mecanismos de lesão neuronal, decorrente do desequilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade dos sistemas antioxidantes de neutralizá-las. No diabetes, a hiperglicemia promove esse desequilíbrio, culminando em danos teciduais e celulares. Durante a gestação, o estresse oxidativo é considerado um dos fatores mais relevantes para o prejuízo ao desenvolvimento fetal. Adicionalmente, o hipocampo figura entre as regiões mais vulneráveis a esse processo, resultando em perda neuronal [24].

No estudo de Foghi e Ahmadpour [25], foi constatada atrofia hipocampal associada ao ambiente hiperglicêmico, enquanto a perda neuronal foi atribuída ao estresse oxidativo. Em outro trabalho que analisou o hipocampo sob condições hiperglicêmicas, foram identificadas alterações estruturais e funcionais no SNC, bem como redução da densidade de espinhas dendríticas, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, ativação de vias apoptóticas e comprometimento neuronal, contribuindo para déficits cognitivos e processos neurodegenerativos [24,26].

No que se refere à apoptose, verificou-se, de forma surpreendente, que os filhotes de 30 e 90 dias do grupo exposto ao ambiente hiperglicêmico apresentaram menor expressão de caspase-3 ativada, protease efetora ativada na fase final da cascata apoptótica, em comparação ao grupo controle. À primeira vista, esse achado pode parecer paradoxal, uma vez que indica menor morte celular em hipocampus morfolologicamente mais delgados. Contudo, é importante considerar que a apoptose constitui um processo fisiológico essencial para o desenvolvimento neural e, em ratos, ocorre em períodos bem definidos: no final da vida embrionária (E17-E21), no início da vida pós-natal (P3-P7) e, em níveis mais baixos, entre P14 e P21, especialmente no cerebelo e no hipocampo [27,28].

Considerando esse cenário, a maior expressão de caspase-3 no hipocampo dos animais do grupo controle reflete um padrão fisiológico de normalidade, enquanto a menor expressão identificada na prole de mães hiperglicêmicas pode indicar uma resposta compensatória a perdas celulares exacerbadas ocorridas durante esses períodos críticos, essenciais para o estabelecimento de circuitos neurais eficientes e maduros. Segundo Hami [27], a diminuição da espessura hipocampal decorre da elevada taxa de morte celular nos primeiros dias de vida. Adicionalmente, há evidências de que a hiperglicemia

materna prolongada durante períodos críticos do desenvolvimento desregula os níveis de apoptose e afeta a neurogênese hipocampal, reduzindo a proliferação e a sobrevivência celular no período pós-natal. Esses achados demonstram que o ambiente hiperglicêmico interfere no processo fisiológico de poda sináptica, crucial para a formação e a organização das redes neuronais durante o desenvolvimento [29].

5. Conclusão

Os resultados deste estudo demonstram que a hiperglicemia materna promove alterações morfológicas persistentes no hipocampo da prole, acompanhadas por aumento da produção de ROS, redução da capacidade antioxidante total e diminuição da atividade da SOD. Esses achados indicam que a exposição intrauterina ao ambiente hiperglicêmico compromete o equilíbrio redox e interfere no desenvolvimento estrutural hipocampal, com repercussões mantidas até a idade adulta. A continuidade dessas investigações é essencial para esclarecer se tais alterações persistem até a senescência e se contribuem para maior predisposição a déficits cognitivos, demências ou outras doenças neurodegenerativas.

Contribuição dos Autores

Mascarenhas FNAP: realizou a manipulação dos animais, a extração de material para análise, os cortes e as colorações, além de orientar a análise morfológica. Oliveira MTR: conduziu toda a análise morfológica e a análise dos resultados. Peixoto LFF e Ribeiro DL: conduziram a extração de proteínas para a análise de morte celular. Duarte RMF, Teixeira RR e Espíndola FS: realizaram a análise de estresse oxidativo. Silva NF: auxiliou na manipulação e no tratamento dos animais, no controle dos acasalamentos e na análise dos resultados. Zanon RG: foi a orientadora e coordenadora geral do trabalho, desde a concepção até a escrita do artigo científico. Todos os autores contribuíram para as análises, a integração de ideias e a discussão.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Aprovação Ética

Aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, sob o protocolo CEUA 056/18, da Universidade Federal de Uberlândia.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Rede de Biotérios de Roedores (REBIR) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES - Código de Financiamento 001.

Referências

1. Organização Pan-Americana da Saúde, Ministério da Saúde, Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia, Sociedade Brasileira de Diabetes. Rastreamento e diagnóstico de diabetes mellitus gestacional no Brasil. Brasília: OPAS; 2016. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/34278>
2. Schmidt MI, Duncan BB, Reichelt AJ, Branchtein L, Matos MC, Costa e Forti A, et al. Gestational diabetes mellitus diagnosed with a 2-h 75-g oral glucose tolerance test and adverse pregnancy outcomes. *Diabetes*

Care. 2001; 24(7):1151-1155. <https://doi.org/10.2337/diacare.24.7.1151>

3. Mocellin LP, Gomes HA, Sona L, Giacomini GM, Pizzuti EP, Nunes GB, et al. Gestational diabetes mellitus prevalence in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Cad Saude Publica*. 2024; 40(8):e00064919. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11386532/>

4. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(11):3342. <https://doi.org/10.3390/ijms19113342>

5. Godinho BV, Parma IT, Ferraz NO, Borges MSG, Rocha TAF, Nascimento MEM, et al. Diabetes mellitus gestacional: fisiopatologia, fatores de risco e manejo terapêutico. *Brazilian Journal of Development*. 2023; 9(4):13859-13870. <https://doi.org/10.34117/bjdv9n4-090>

6. Karkia R, Giacchino T, Shah S, Gough A, Ramadan G, Akolekar R. Gestational diabetes mellitus: association with maternal and neonatal complications. *Medicina*. 2023; 59(12):2096. <https://doi.org/10.3390/medicina59122096>

7. Rodolaki K, Pergialiotis V, Iakovidou N, Boutsikou T, Iliodromiti Z, Kanaka-Gantenbein C. The impact of maternal diabetes on the future health and neurodevelopment of the offspring: a review of the evidence. *Front Endocrinol*. 2023; 14:1125628. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1125628>

8. Vuong B, Odero G, Rozbacher S, Stevenson M, Kereliuk SM, Pereira TJ, et al. Exposure to gestational diabetes mellitus induces neuroinflammation, derangement of hippocampal neurons, and cognitive changes in rat offspring. *J Neuroinflammation*. 2017; 14:80. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0859-9>

9. Zagrean AM, Georgescu IA, Ilesanu MI, Ionescu RB, Haret RM, Panaitescu AM, et al. Oxytocin and vasopressin in the hippocampus. *Vitam Horm*. 2022; 118:83-127. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35180939/>

10. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ. Princípios de neurociências. 5ª ed. Porto Alegre: AMGH; 2014.

11. Moran C, Phan TG, Chen J, Blizzard L, Beare R, Venn A, et al. Brain atrophy in type 2 diabetes: regional distribution and influence on cognition. *Diabetes Care*. 2013; 36(12):4036-4042. <https://doi.org/10.2337/dc13-0143>

12. Hami J, Kheradmand H, Haghir H. Gender differences and lateralization in the distribution pattern of insulin-like growth factor-1 receptor in developing rat hippocampus: an immunohistochemical study. *Cell Mol Neurobiol*. 2014; 34(2):215-226. <https://doi.org/10.1007/s10571-013-0005-x>

13. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 7th ed. Elsevier; 2013.

14. He Y, Wu N, Yu W, Li L, OuYang H, Liu X, et al. Research progress on the experimental animal model of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020; 13:4235-4247. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S270935>

15. Rosinha PMO, Dantas RAB, Alves MIP, Azevedo TCMF, Inácio IMR, Ferreira SGE, et al. Body mass index and gestational weight gain: relevance in gestational diabetes and outcomes - a retrospective cohort study. *Arch Endocrinol Metab*. 2022; 66(2):261-268. <https://doi.org/10.20945/2359-399700000463>

16. Fasoulakis Z, Koutras A, Antsaklis P, Theodora M, Valsamaki A, Daskalakis G, et al. Intrauterine growth restriction due to gestational diabetes: from pathophysiology to diagnosis and management. *Medicina*. 2023; 59(6):1139. <https://doi.org/10.3390/medicina59061139>

17. Raza A, Saleem S, Imran S, Rahman S, Haroon M, Razzaq A, et al. From metabolic dysregulation to neurodegenerative pathology: the role of hyperglycemia, oxidative stress, and blood-brain barrier breakdown in T2D-driven Alzheimer's disease. *Metab Brain Dis*. 2025; 40(7):276.

<https://doi.org/10.1007/s11011-025-01700-z>

18. Lu Z, Teng Y, Wang L, Jiang Y, Li T, Chen S, et al. Abnormalities of hippocampus and frontal lobes in heart failure patients and animal models with cognitive impairment or depression: a systematic review. *PLoS One*. 2022; 17(12):e0278398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278398>
19. Zhang J, Xie L, Cheng C, Liu Y, Zhang X, Wang H, et al. Hippocampal subfield volumes in mild cognitive impairment and alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Brain Imaging Behav*. 2023; 17(6):778-793. <https://doi.org/10.1007/s11682-023-00804-3>
20. Zhao W, Zhao L, Chang X, Lu X, Tu Y. Elevated dementia risk, cognitive decline, and hippocampal atrophy in multisite chronic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023; 120(9):e2215192120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2215192120>
21. Suthana NA, Donix M, Wozny DR, Bazih A, Jones M, Heidemann RM, et al. High-resolution 7T fMRI of human hippocampal subfields during associative learning. *J Cogn Neurosci*. 2015; 27(6):1194-1206. https://doi.org/10.1162/jocn_a_00772
22. Malykhin NV, Coupland NJ. Hippocampal neuroplasticity in major depressive disorder. *Neuroscience*. 2015; 309:200-213. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.04.047>
23. Travis S, Coupland NJ, Silversone PH, Huang Y, Fujiwara E, Carter R, et al. Dentate gyrus volume and memory performance in major depressive disorder. *J Affect Disord*. 2015; 172:159-164. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.09.048>
24. Luna R, Talanki Manjunatha R, Bollu B, Jhaveri S, Avanthika C, Reddy N, et al. A comprehensive review of neuronal changes in diabetics. *Cureus*. 2021; 13(10):e19142. <https://doi.org/10.7759/cureus.19142>
25. Foghi K, Ahmadpour S. Role of neuronal apoptosis in volumetric change of hippocampus in diabetes mellitus type 1: a predictive model. *ISRN Anat*. 2013; 2013:958461. <https://doi.org/10.5402/2013/958461>
26. Malone JL, Hanna S, Saporta S, Mervis RF, Park CR, Chong L, et al. Hyperglycemia not hypoglycemia alters neuronal dendrites and impairs spatial memory. *Pediatr Diabetes*. 2008; 9(6):531-539. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5448.2008.00431.x>
27. Hami J, Vafaei-Nezhad S, Ghaemi K, Sadeghi A, Ivar G, Shojae F, et al. Stereological study of the effects of maternal diabetes on cerebellar cortex development in rat. *Metab Brain Dis*. 2016; 31(3):643-652. <https://doi.org/10.1007/s11011-016-9802-5>
28. Clarke PGH. Neuronal death in the development of the vertebrate central nervous system. *Semin Neurosci*. 1994; 6(5):291-297. <https://doi.org/10.1006/smns.1994.1037>
29. Piazza FV, Segabinazi E, de Meireles ALF, Mega F, Spindler CF, Augustin OA, et al. Severe uncontrolled maternal hyperglycemia induces microsomnia and neurodevelopment delay accompanied by apoptosis, cellular survival, and neuroinflammatory deregulation in rat offspring hippocampus. *Cell Mol Neurobiol*. 2019; 39(3):401-414. <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00658-8>

Recebido: 19 Maio 2026 | **Aceito:** 21 Junho 2026 | **Publicado:** 24 Julho 2026



Mascarenhas et al. Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Licença Creative Commons Attribution CC-BY 4.0, que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente