

Programación de hipertensión arterial por restricción moderada de cinc durante la vida fetal y la lactancia. Alteraciones morfológicas y funcionales tempranas del sistema cardiovascular en ratas de ambos sexos

Fetal Programming of Hypertension Induced by Moderate Zinc Restriction during Prenatal Life and Lactation: Early Morphological and Functional Alterations in Cardiovascular System in Both Sexes

SOFÍA AGUIRRE¹, LUCIANA C. VEIRAS², RODRIGO SÁNCHEZ³, DANIELA L. CARDELLI ALCALDE⁴, ROSANA ELESGARAY⁵, MARÍA A. COSTA⁶, CRISTINA T. ARRANZ⁷, ANALÍA L. TOMAT⁸

Recibido: 12/11/2010
Aceptado: 15/12/2010

Dirección para separatas:

Dra. Analía L. Tomat
Cátedra de Fisiología
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Junín 956 - Piso 7
(1113) CABA, Argentina
Tel. 54 (011) 4964-8280 Interno 304
Fax: 54 (011) 4508-3645
e-mail: atomat@ffyb.uba.ar

RESUMEN

Introducción

Numerosos estudios sugieren que trastornos metabólicos y desequilibrios nutricionales durante la vida intrauterina pueden inducir adaptaciones que programen enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial. En trabajos previos mostramos que la restricción moderada de cinc durante la vida fetal, la lactancia y/o el crecimiento conduce al desarrollo de hipertensión arterial y disfunción renal en la adultez.

Objetivos

Evaluar la presencia de alteraciones cardiovasculares tempranas en ratas sometidas a una deficiencia moderada de cinc durante la vida fetal y la lactancia y si existen diferencias respecto del sexo.

Material y métodos

Ratas Wistar hembras recibieron durante la preñez hasta el destete una dieta control o baja en cinc. En el momento del nacimiento se conformaron cuatro grupos experimentales: machos y hembras nacidos de madres bajas y machos y hembras nacidos de madres controles. A los 6 y a los 21 días de vida se sacrificaron y se determinaron el peso corporal, el peso del corazón, parámetros morfométricos cardiovasculares, la actividad de la óxido nítrico sintasa en el sistema cardiovascular y el estado oxidativo cardíaco.

Resultados

El aporte insuficiente de cinc durante la vida fetal y la lactancia indujo un proceso de remodelación del cardiomiocito, diferente en machos que en hembras, un aumento del estrés oxidativo cardíaco, una remodelación hipotrófica de la aorta torácica y una disminución de la actividad de la óxido nítrico sintasa en el sistema cardiovascular.

Conclusiones

Este trabajo demuestra que la deficiencia de cinc induce alteraciones cardiovasculares, distintas en machos que en hembras, tempranas en el desarrollo, que podrían contribuir a la programación de enfermedades en la vida adulta.

REV ARGENT CARDIOL 2011;79:322-328.

Palabras clave >

Presión arterial - Miocitos - Aorta - Óxido nítrico - Estrés oxidativo - Cinc

Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina. IQUIMEFA-CONICET

¹ Becaria de la Universidad de Buenos Aires. Ayudante de segunda de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

² Ayudante de segunda de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

³ Ayudante de segunda de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

⁴ Ayudante de segunda de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

⁵ Profesional asistente del CONICET. Doctora de la Universidad de Buenos Aires, Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

⁶ Doctora de la Universidad de Buenos Aires, Área Fisiología. Profesora adjunta de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

⁷ Investigadora independiente del CONICET. Profesora titular de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

⁸ Doctora de la Universidad de Buenos Aires, Área Fisiología. Jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

FUENTES DE APOYO: Este trabajo fue realizado con el aporte de la Universidad de Buenos Aires (UBACYT: B008), CONICET (PIP 112-200801-01121), IQUIMEFA, CONICET, Argentina

Abreviaturas >

Bh	Cría hembra de madre baja	GPx	Glutatión peroxidasa
Bm	Cría macho de madre baja	NOS	Óxido nítrico sintasa
CAT	Catalasa	SOD	Superóxido dismutasa
Ch	Cría hembra de madre control	TBARS	Sustancias reactivas del ácido 2-tiobarbitúrico
Cm	Cría macho de madre control		

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, numerosos estudios epidemiológicos y experimentales han proporcionado pruebas suficientes que sugieren que trastornos metabólicos y desequilibrios nutricionales durante una ventana de tiempo crítica en el desarrollo tienen efectos persistentes sobre la salud de la descendencia y pueden ser responsables de la programación *in útero* de enfermedades como la obesidad, la diabetes y la hipertensión arterial en la vida adulta. (1, 2)

La ingesta inadecuada de micronutrientes durante los períodos críticos del crecimiento, conocida como desnutrición oculta, se ha convertido en un problema de salud importante en los países desarrollados y en vías de desarrollo, particularmente en las mujeres embarazadas, los lactantes y los niños que tienen una dieta desequilibrada. Este trastorno nutricional incluye la deficiencia de minerales y vitaminas, como cinc, hierro, calcio, vitamina A y vitamina D. (3)

El cinc es un oligoelemento esencial requerido por todos los organismos vivos para muchas funciones fisiológicas, entre ellos, el crecimiento y la reproducción, y su déficit puede afectar el desarrollo de múltiples órganos, incluidos el cerebro, los pulmones, el esqueleto, los riñones y el corazón. (1) El mantenimiento de los depósitos subcelulares de cinc es esencial para la integridad estructural y funcional de las células e interviene en el mantenimiento de la función de barrera fisiológica, la reducción del estrés oxidativo y la inhibición de la apoptosis. (4)

Estudios recientes publicados en *Lancet* sobre desnutrición materno-infantil concluyen que la deficiencia de cinc es responsable de un 4% de la mortalidad infantil. (5) Asimismo, la Food and Agricultural Organization (FAO) estima una prevalencia de hasta el 20,5% de ingesta inadecuada de cinc. (6) En la actualidad, los casos de deficiencia grave de cinc son poco comunes, mientras que su deficiencia moderada se ha informado notablemente, lo cual puede deberse a una ingesta o absorción inadecuada de cinc, a un aumento de las pérdidas corporales de este elemento o a un aumento de sus necesidades. (7)

En trabajos previos demostramos que la deficiencia moderada de cinc en ratas durante el crecimiento intrauterino y posnatal es un modelo de programación fetal de las enfermedades cardiovasculares y renales en la vida adulta. La restricción de cinc en la dieta durante la vida fetal y la lactancia induce un aumento de la presión arterial y altera la función renal en la vida adulta. Las ratas deficientes en cinc mostraron una disminución en la tasa de filtrado glomerular asociado con una reducción en el número de nefronas

y de las áreas de filtración glomerular, un aumento del estrés oxidativo, activación de la apoptosis y fibrosis renal, proteinuria y disminución de la actividad del sistema del óxido nítrico. Una dieta con el contenido adecuado de cinc durante el crecimiento posdestete no logró corregir los efectos causados por esta deficiencia. (8-11)

Habiendo visto estas alteraciones en la adultez, el objetivo de este trabajo fue evaluar en ratas sometidas a una deficiencia moderada de cinc durante la vida fetal y la lactancia la presencia de alteraciones cardiovasculares en etapas tempranas del crecimiento, como también evaluar si existen diferencias de sexo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ratas Wistar hembras, con un peso de $271 \text{ g} \pm 7 \text{ g}$ obtenidas de los laboratorios de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (Universidad de Buenos Aires, Argentina), fueron apareadas por exposición con machos Wistar durante una semana. Inmediatamente después, las ratas hembras fueron alimentadas al azar con una dieta baja en cinc (B, 8 ppm de cinc, $n = 9$) o una dieta control (C, 30 ppm de cinc, $n = 9$) durante los períodos de preñez y lactancia. Después del nacimiento, no más de 10 crías permanecieron con cada madre hasta los 6 o los 21 días de vida. Por lo tanto, se estudiaron cuatro grupos experimentales: crías machos de madres C (Cm), crías hembras de madres C (Ch), crías machos de madres B (Bm) y crías hembras de madres B (Bh). Ambas dietas contenían los nutrientes necesarios, a excepción del contenido de cinc, para satisfacer las necesidades de los roedores en los períodos de preñez, lactancia y crecimiento de acuerdo con las recomendaciones de AIN-93. La composición de las dietas experimentales y las recomendaciones nutricionales según AIN-93 para roedores en crecimiento se detallan en la Tabla 1.

Los animales fueron cuidados de acuerdo con las normas de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (Reglamento 6344/96) y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio publicado por el US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, Revised 1996). Las madres y sus crías se alojaron en jaulas de plástico con condiciones de humedad y temperatura controladas, iluminadas con un ciclo de 12 horas luz-oscuridad.

Los animales fueron provistos de comida y agua desionizada *ad libitum*. El consumo de comida de las madres y las crías fue controlado cada dos días durante todo el experimento.

A los 6 y a los 21 días se determinó el peso de las crías machos y hembras y posteriormente fueron sacrificadas por decapitación cervical para extraer el corazón y la aorta torácica. El peso del corazón se expresó cada 100 g de peso corporal.

La concentración de cinc en muestras de suero de las crías machos y hembras se determinó a los 21 días por

Dieta	AIN-93	Control	Baja
Caseinato de potasio*	200	200	200
Aceite de soja	70	70	70
Mezcla de minerales [†]	35	35	–
Mezcla de minerales - libre de cinc [‡]	–	–	35
Mezcla de vitaminas [§]	10	10	10
Colina	1	1	1
Dextrina	684	684	684
Cinc [¶]	0,03	0,03	0,008

* Caseinato de potasio, contenido/100 g: 85,1 g de proteínas.

[†] Composición (g/kg mezcla): Carbonato de calcio (357); fosfato monobásico de potasio (196); cloruro de sodio (74); sulfato de magnesio 7 hidratado (146,9); citrato férrico de amonio (6,06); cloruro de cinc (1,79); sulfato de manganeso 1 hidratado (0,92); sulfato cúprico 5 hidratado (0,63); yodato de potasio (0,0078); selenato de sodio anhidro (0,1025); paramolibdato de amonio 4 hidratado (0,008); sacarosa molida (162).

[‡] Composición: Idéntica a la mezcla de minerales pero sin cloruro de cinc.

[§] Composición (g/kg mezcla): Ácido nicotínico (3); pantotenato de calcio (1,6); piridoxina HCl (0,7); tiamina-HCl (0,6); riboflavina (0,6); ácido fólico (0,2); vitamina B12, cianocobalamina (2,5); vitamina E, all-rac-alfa-tocoferil acetato, 500 UI/g (15); vitamina A all-trans-retinil palmitato, 500 UI/g (0,8); vitamina D3, colecalciferol, 400 UI/g (0,25); vitamina K filoquinona (0,075); sacarosa molida (974,655).

[¶] El contenido de cinc presente en la dieta baja resulta de la presencia de trazas de cinc en los otros componentes de la dieta.

Tabla 1. Recomendaciones nutricionales para roedores en crecimiento y composición de dietas experimentales (g/kg de dieta)

espectrofotometría de absorción atómica (Varian Spectrophotometer Spectr AA-20, air acetylene flame, 0.5 nm slit, wavelength of 213.9 nm, (Perkin Elmer Corp, Norwalk CT, USA). (12)

Evaluación histológica

Secciones del tejido cardíaco y de la aorta torácica (3 mm) se tiñeron con hematoxilina y eosina para determinar los parámetros morfométricos: diámetro mayor y menor de los cardiomiocitos y espesor de la íntima y de la media vascular. Los estudios se realizaron en diez áreas a partir de dos secciones de tejido cardíaco y vascular; se obtuvieron 100 mediciones de estos parámetros por animal. Los parámetros morfométricos se analizaron con una magnificación de 1×400 , con un microscopio óptico Nikon E400 (Nikon Instrument Group, Melville, NY) a doble ciego, y se utilizó el *software* Image-Pro Plus 4.5.1.29 (Media Cybernetics, LP, Silver Spring, MD) para el análisis de las imágenes.

Estado oxidativo cardíaco

El daño oxidativo de los lípidos se evaluó midiendo la formación de sustancias reactivas del ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS, nmol/mg de proteína). (13) El contenido de glutatión reducido se midió y se expresó como mg/mg de proteína. (14) La actividad superóxido dismutasa (SOD) se evaluó midiendo la capacidad del homogenato para inhibir la autooxidación de la adrenalina y se expresó como unidades de SOD/mg de proteína. (15) La actividad catalasa (CAT) se determinó por la conversión del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua y se expresó como pmol/mg de proteína. (16) Para medir la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) se utilizó el ensayo descrito por Fhohé y Gunzler y se expresó en pmol/min/mg de proteína. (17) La concentración de proteínas se determinó mediante el método de Lowry. (18)

Actividad de la óxido nítrico sintasa

Se determinó como la cantidad de [¹⁴C] L-citrulina generada a partir de [¹⁴C] L-arginina (actividad específica: 360 mCi/mmol, Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Boston, USA), por gramo de tejido por minuto en la aorta torácica y en el corazón. (19)

Análisis estadístico

Todos los valores están expresados como media \pm EEM. Para el análisis estadístico se empleó el *software* Prism, Graph Pad. Los datos se analizaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA de dos variables) seguido *a posteriori* de la prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. Se consideró diferencia significativa un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

A los 6 y a los 21 días de vida, las crías machos y hembras nacidas de madres que fueron alimentadas con la dieta baja en cinc durante la gestación y la vida postnatal temprana, Bm y Bh, tuvieron menor peso corporal y menor peso del corazón (en relación con el peso corporal) que sus respectivos controles (Tablas 2 y 3). No se observaron diferencias significativas entre ambos sexos en estos parámetros.

Con respecto a los cardiomiocitos, a los 6 días de vida, tanto los machos como las hembras deficientes en cinc mostraron un diámetro mayor elevado con respecto a sus controles. Sólo los machos mostraron un diámetro menor disminuido. Por otra parte, las crías Bh mostraron los diámetros aumentados con respecto al grupo Bm. A los 21 días de vida, los animales Bm presentaron un diámetro mayor y menor elevado con respecto a sus controles y estos parámetros fueron mayores en las crías Bm respecto de las Bh. Por otra parte, las hembras deficientes en cinc presentaron un

diámetro menor aumentado en comparación con sus controles.

En la aorta torácica, a los 6 días de vida, se observó un espesor de la íntima menor en las crías deficientes de cinc, tanto hembras como machos, un espesor de la media disminuido en los animales Bm y un espesor de la media mayor en el grupo Bh respecto de sus controles (Tabla 2). A los 21 días de vida también fue menor el espesor de la íntima de los animales machos y hembras

deficientes en cinc. No se observaron diferencias significativas en el espesor de la media ().

En la Tabla 4 se detallan indicadores del estado oxidativo de los grupos estudiados a los 21 días de vida. La actividad de la enzima GPx fue menor en los grupos Bm y Bh respecto de sus controles, sin que se observara diferencia entre sexos. No hubo diferencias en las actividades de las enzimas CAT y SOD. En cuanto al contenido de glutatión reducido, fue menor en los

Tabla 2. Peso corporal, peso del corazón y parámetros morfométricos de los cardiomiocitos y de la aorta torácica a los 6 días de vida.

	Cm	Bm	Ch	Bh
Peso corporal (g)	11,4 ± 0,5	8,5 ± 0,3*	10,5 ± 0,6	8,1 ± 0,3 [†]
Peso del corazón (g/100 g peso corporal)	0,73 ± 0,01	0,63 ± 0,02*	0,75 ± 0,02	0,65 ± 0,02 [†]
Cardiomiocitos: parámetros morfométricos				
Diámetro mayor (µm)	9,0 ± 0,2	13,3 ± 0,6*	8,2 ± 0,4	15,7 ± 0,8 ^{†,‡}
Diámetro menor (µm)	8,8 ± 0,2	7,0 ± 0,2*	8,2 ± 0,2	8,6 ± 0,4 [‡]
Aorta torácica: parámetros morfométricos				
Espesor íntima (µm)	21,9 ± 0,3	18,3 ± 0,2*	21,9 ± 0,4	18,9 ± 0,2 [†]
Espesor media (µm)	246 ± 2	233 ± 3*	257 ± 3	263 ± 3 [†]

Cm: Cría macho de madre control. Bm: Cría macho de madre baja. Ch: Cría hembra de madre control. Bh: Cría hembra de madre baja. Factor dieta: * p < 0,05 vs. Cm, [†] p < 0,05 vs. Ch; factor sexo: [‡] p < 0,001 vs. Bm; interacción dieta x sexo: efecto no significativo. Pesos: n = 20 para cada grupo. Parámetros morfométricos: n = 6 para cada grupo.

Tabla 3. Peso corporal, peso del corazón y parámetros morfométricos de los cardiomiocitos y de la aorta torácica a los 21 días de vida.

	Cm	Bm	Ch	Bh
Peso corporal (g)	39,4 ± 1,3	33,9 ± 0,7*	38,4 ± 1,3	30,1 ± 1,1 [†]
Peso del corazón (g/100 g peso corporal)	0,79 ± 0,09	0,57 ± 0,01*	0,79 ± 0,08	0,56 ± 0,02 [†]
Cardiomiocitos: parámetros morfométricos				
Diámetro mayor (µm)	14,0 ± 0,3	18,2 ± 0,4*	15,4 ± 0,4	15,1 ± 0,3 [‡]
Diámetro menor (µm)	8,6 ± 0,2	10,7 ± 0,2*	9,4 ± 0,2 [§]	10,1 ± 0,2 ^{†,‡}
Aorta torácica: parámetros morfométricos				
Espesor íntima (µm)	23,3 ± 0,2	18,3 ± 0,1*	23,9 ± 0,2	18,9 ± 0,2 [†]
Espesor media (µm)	280 ± 2	298 ± 2	287 ± 3	280 ± 2

Cm: Cría macho de madre control. Bm: Cría macho de madre baja. Ch: Cría hembra de madre control. Bh: Cría hembra de madre baja. Factor dieta: * p < 0,05 vs. Cm, [†] p < 0,05 vs. Ch; factor sexo: [‡] p < 0,05 vs. Bm, [§] p < 0,01 vs. Cm; interacción dieta x sexo: efecto no significativo. Pesos: n = 20 para cada grupo. Parámetros morfométricos: n = 6 para cada grupo.

	Cm	Bm	Ch	Bh
Actividad enzimas antioxidantes				
GPx (pmol/min/mg proteína)	81 ± 8	65 ± 6*	86 ± 6	69 ± 8 [†]
SOD (USOD/mg proteína)	6,0 ± 0,9	5,2 ± 0,3	4,5 ± 0,5	3,9 ± 0,2
CAT (pmol/mg proteína)	0,35 ± 0,02	0,30 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,34 ± 0,03
Glutatión (mg/mg proteína)	8,6 ± 0,8	2,7 ± 1,1*	10,1 ± 1,3	5,8 ± 0,3 [†]
TBARS (nmol/mg proteína)	0,40 ± 0,05	0,32 ± 0,02	0,22 ± 0,04 [§]	0,18 ± 0,02 [‡]

Cm: Cría macho de madre control. Bm: Cría macho de madre baja. Ch: Cría hembra de madre control. Bh: Cría hembra de madre baja. Factor dieta: * p < 0,05 vs. Cm, [†] p < 0,05 vs. Ch; factor sexo: [‡] p < 0,05 vs. Bm, [§] p < 0,05 vs. Cm; interacción dieta x sexo: efecto no significativo. n = 10 para cada grupo.

Tabla 4. Estado oxidativo en el corazón a los 21 días.

grupos Bm y Bh en comparación con los grupos Cm y Ch, respectivamente. Los animales Ch y Bh tuvieron una concentración menor de TBARS que los animales Cm y Bm, respectivamente.

En la Figura 1 se representan los resultados de la actividad de la NOS en el corazón a los 6 y a los 21 días de vida y en la aorta torácica a los 21 días de vida de los cuatro grupos experimentales. La restricción moderada de cinc durante la vida fetal y la lactancia indujo una disminución de la actividad de la NOS en los animales machos y hembras deficientes de cinc, sin diferencias entre sexos.

DISCUSIÓN

La deficiencia de nutrientes durante etapas tempranas de la vida tiene como consecuencia el desarrollo de patologías en la vida adulta. Esto se relaciona con la hipótesis de programación fetal, expuesta por Barker y colaboradores, que relaciona un ambiente intrauterino adverso con alteraciones del crecimiento fetal y de la función de diversos órganos en la vida. (20)

En este estudio demostramos que las alteraciones morfológicas del tejido cardiovascular inducidas por la deficiencia de cinc durante la vida fetal y la lactancia podrían ser uno de los mecanismos responsables de la programación del aumento de la presión arterial que observamos previamente en la vida adulta de estos animales. Las crías machos y hembras expuestas a una deficiencia de cinc presentaron un retardo en su crecimiento dado que mostraron pesos corporales menores y una disminución en el peso cardíaco durante la vida posnatal temprana.

El peso cardíaco menor estuvo acompañado de una remodelación hipertrófica de los miocitos tanto a los 6

como a los 21 días de vida. Teniendo en cuenta que el cinc es un micronutriente implicado en la regulación de los procesos de proliferación y muerte celular programada, es factible que los cambios morfológicos observados se deban a que su deficiencia altere los procesos de hiperplasia e hipertrofia cardíaca que ocurren durante el desarrollo y la posterior maduración del corazón. Es sabido que, en los roedores, la binucleación de los cardiomiocitos ocurre entre los días 4 y 12 de la vida posnatal. Luego de este período, las células miocárdicas pierden la capacidad de dividirse y el posterior crecimiento del corazón se debe a la hipertrofia de estas células y a la hiperplasia de las células no musculares. (21-24)

Observamos además que estos cambios fueron diferentes y más evidentes en machos que en hembras. Esto nos lleva a preguntarnos qué mecanismos están involucrados y si los estrógenos desempeñan un papel protector en el desarrollo de patologías en la vida adulta, inducidas por un trastorno durante la vida fetal. Los animales sometidos a una deficiencia moderada de cinc mostraron también una actividad antioxidante menor en el tejido cardíaco, dado que presentaron menor actividad de la GPx y del contenido de glutatión reducido. Los cambios observados en la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD, GPx y CAT) no difieren entre los sexos. Sin embargo, las hembras mostraron menor daño oxidativo, dado que presentaron niveles menores de peroxidación lipídica, lo cual sugiere una protección antioxidante mayor. Estos resultados están de acuerdo con numerosos trabajos que indican que el cinc protege a las células del daño oxidativo a través de sus efectos sobre el glutatión, el principal antioxidante intracelular. Por otra parte, el cinc puede adherirse a sitios de la membrana que de otro modo unirían metales que participan en reacciones de oxidoreducción (Cu, Fe) y es un componente esencial de las metalotioneínas. (25)

Nuestros resultados muestran que el aporte bajo de cinc durante la vida fetal y posnatal temprana promueve una disminución de la actividad de la NOS vascular y cardíaca, que podría estar relacionada con una disponibilidad menor de cinc para la formación adecuada del *cluster* de cinc-tiolato, que es clave para mantener su actividad catalítica. (26) Por otra parte, el aumento de las especies reactivas del oxígeno podría producir el desacople de la NOS y, por ende, una síntesis menor de óxido nítrico.

En la aorta torácica se observó una remodelación hipotrófica de la íntima y una disminución en la actividad de la NOS, tanto en machos como en hembras, que podrían sugerir una disfunción endotelial. Esto incapacitaría a los vasos de conducción para responder adecuadamente ante cambios en el flujo sanguíneo y en las fuerzas de rozamiento.

Nuestros resultados están de acuerdo con la hipótesis de programación fetal, que sugiere que un trastorno durante la vida fetal, que conduce a un crecimiento intrauterino restringido, da por resultado un peso bajo

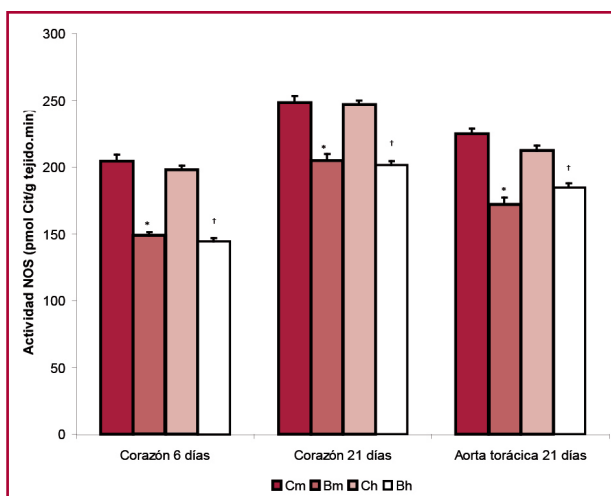


Fig. 1. Actividad de la óxido nítrico sintasa en el corazón a los 6 y a los 21 días de vida y en la aorta torácica a los 21 días. Cm: Cría macho de madre control. Bm: Cría macho de madre baja. Ch: Cría hembra de madre control. Bh: Cría hembra de madre baja. Factor dieta: * $p < 0,001$ vs. Cm, † $p < 0,001$ vs. Ch; factor sexo: efecto no significativo; interacción dieta x sexo: efecto no significativo. $n = 6$ para cada grupo.

al nacer y pone en marcha respuestas adaptativas que pueden llevar a cambios en el desarrollo normal del corazón y del sistema vascular. (20)

La deficiencia de cinc en períodos críticos del desarrollo es un factor de riesgo nutricional que estaría relacionado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión arterial, en la vida adulta.

SUMMARY

Fetal Programming of Hypertension Induced by Moderate Zinc Restriction during Prenatal Life and Lactation: Early Morphological and Functional Alterations in Cardiovascular System in Both Sexes

Background

Several studies suggest that metabolic disorders and nutrition imbalance during prenatal life may induce adaptations that program cardiovascular diseases and hypertension. We have previously shown that moderate zinc restriction during prenatal life, lactation and/or growth leads to the development of hypertension and renal dysfunction in adulthood.

Objectives

To evaluate the presence of early cardiovascular alterations in rats exposed to a moderate zinc deficient diet during prenatal life and lactation, and to determine whether there are differences between males and females.

Material and Methods

Female Wistar rats received low zinc diet or control diet from the beginning of pregnancy up to weaning. Four experimental groups were established at birth: males and females born from low-diet mothers, and males and females born from control-diet mothers. Male and female offspring were sacrificed at 6 and 21 days of life to evaluate body weight, heart weight, cardiovascular morphometric parameters and nitric oxide synthase activity in the cardiovascular system and cardiac oxidative status.

Results

The insufficient zinc intake during prenatal life and lactation induced a remodeling process of the cardiomyocyte which was different in males and females, increased cardiac oxidative stress, produced a hypotrophic remodeling of the thoracic aorta and reduced nitric oxide synthase activity in the cardiovascular system.

Conclusions

This study shows that zinc deficiency induces cardiovascular abnormalities in early stages of development, which are different in males and females that may contribute to programming of diseases in adulthood.

Key words > Blood Pressure - Myocytes - Aorta - Nitric Oxide - Oxidative Stress - Zinc

BIBLIOGRAFÍA

1. Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev* 1993;73:79-118.
2. Alexander BT. Fetal programming of hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290:R1-R10.
3. Bhutta ZA, Ahmed T, Black RE, Cousens S, Dewey K, Giugliani E, Haider BA, Kirkwood B, Morris SS, Sachdev HP, Shekar M; Maternal and Child Undernutrition Study Group. What works? Interventions for maternal and child undernutrition and survival. *Lancet* 2008;371:417-40.
4. Prasad AS. Clinical, immunological, anti-inflammatory and anti-oxidant roles of zinc. *Exp Gerontol* 2008;43:370-7.
5. Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, Caulfield LE, de Onis M, Ezzati M, Mathers C, Rivera J; Maternal and Child Undernutrition Study Group. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet* 2008;371:243-60.
6. Wuehler SE, Peerson JM, Brown KH. Use of national food balance data to estimate the adequacy of zinc in national food supplies: methodology and regional estimates. *Public Health Nutr* 2005;8:812-9.
7. de Benoist B, Darnton-Hill I, Davidsson L, Fontaine O, Hotz C. Conclusions of the Joint WHO/UNICEF/IAEA/IZiNCG Interagency Meeting on Zinc Status Indicators. *Food Nutr Bull* 2007;28:S480-4.
8. Tomat AL, Weisstaub AR, Jauregui A, Piñeiro A, Balaszczuk AM, Costa MA, Arranz CT. Moderate zinc deficiency influences arterial blood pressure and vascular nitric oxide pathway in growing rats. *Pediatr Res* 2005;58:672-6.
9. Tomat AL, Costa MA, Girgulsky LC, Veiras L, Weisstaub AR, Inserra F, Balaszczuk AM, Arranz CT. Zinc deficiency during growth: influence on renal function and morphology. *Life Sci* 2007;80:1292-302.
10. Tomat A, Elesgaray R, Zago V, Fasoli H, Fellet A, Balaszczuk AM, Schreier L, Costa MA, Arranz C. Exposure to zinc deficiency in fetal and postnatal life determines nitric oxide system activity and arterial blood pressure levels in adult rats. *Br J Nutr* 2010;104:382-9.
11. Tomat AL, Inserra F, Veiras L, Vallone MC, Balaszczuk AM, Costa MA, Arranz C. Moderate zinc restriction during fetal and postnatal growth of rats: effects on adult arterial blood pressure and kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;295:R543-9.
12. Norwalk CT, Sapp RE and Davidson SD. Microwave digestion of multi-component foods for sodium analysis by atomic absorption spectrometry. *J Food Sci* 1991;56:1412-4.
13. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978;52:302-10.
14. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 1969;27:502-22.
15. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972;247:3170-5.
16. Chance B. Special methods: catalase. En: Glick R, editor. *New York: Interscience*; 1954. p. 408-24.
17. Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 1984;105:114-21.
18. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
19. Costa M de los A, Elesgaray R, Loria A, Balaszczuk AM, Arranz C. Atrial natriuretic peptide influence on nitric oxide system in kidney and heart. *Regul Pept* 2004;118:151-7.
20. Barker DJ. The developmental origins of adult disease. *J Am Coll Nutr* 2004;23:588S-595S.
21. Clubb FJ Jr, Bishop SP. Formation of binucleated myocardial cells in the neonatal rat. An index for growth hypertrophy. *Lab Invest* 1984;50:571-7.

22. Li F, Wang X, Capasso JM, Gerdes AM. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:1737-46.
23. Oparil S, Bishop SP, Clubb FJ Jr. Myocardial cell hypertrophy or hyperplasia. *Hypertension* 1984;6:III38-43.
24. Soonpaa MH, Kim KK, Pajak L, Franklin M, Field LJ. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. *Am J Physiol* 1996;271:H2183-9.
25. Prasad AS, Bao B, Beck FW, Kucuk O, Sarkar FH. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radic Biol Med* 2004;37:1182-90.

26. Zou MH, Shi C, Cohen RA. Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. *J Clin Invest* 2002;109:817-26.

Agradecimientos

Los autores del presente trabajo agradecemos la valiosa colaboración técnica de Soledad Massara y de Florencia Secchiari (Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires).