



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**

ALLIFER ROSENDO PEREIRA

**EFEITOS DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS METABÓLICOS NO FÍGADO DA PROLE SUBMETIDA A
DIETA HIPERLIPÍDICA PÓS DESMAME**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
NÚCLEO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E CIÊNCIAS DO ESPORTE

ALLIFER ROSENDO PEREIRA

EFEITOS DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS METABÓLICOS NO FÍGADO DA PROLE SUBMETIDA A
DIETA HIPERLIPÍDICA PÓS DESMAME

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de bacharel em Educação Física.

Orientadora: Mariana Pinheiro Fernandes

Coorientadora: Talitta Ricarly Lopes de Arruda Lima

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2019

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Ana Ligia F. dos Santos, CRB4-2005

P436e Pereira, Allifer Rosendo.

Efeitos da atividade física voluntária materna sobre parâmetros metabólicos no fígado da prole submetida a dieta hiperlipídica pós desmame./ Allifer Rosendo Pereira. - Vitória de Santo Antão, 2019.

34 folhas.

Orientadora: Mariana Pinheiro Fernandes.

Coorientadora: Talitta Ricarly Lopes de Arruda Lima

TCC (Bacharelado em Educação Física) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Educação Física, 2019.

Inclui referências e anexo.

1. Esforço Físico. 2. Metabolismo Energético. 3. Fígado. I. Fernandes, Mariana Pinheiro (Orientador). II. Lima, Talitta Ricarly Lopes de Arruda (Coorientadora). III. Título.

612.044 CDD (23. ed.)

BIBCAV/UFPE-120/2019

ALLIFER ROSENDO PEREIRA

**EFEITOS DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA SOBRE
PARÂMETROS METABÓLICOS NO FÍGADO DA PROLE SUBMETIDA A
DIETA HIPERLIPÍDICA PÓS DESMAME**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de bacharel em Educação Física.

Aprovado em: 28 / 06 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Talitta Ricarly Lopes de Arruda Lima (Coorientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^º. Dr. José Antônio dos Santos (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Esp. Ramon Nascimento da Silva (Examinador Externo)

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus por mais uma vez me proporcionar momentos incríveis na caminhada da vida. Sem Ele nada seria possível.

A minha família, que sempre esteve comigo nos bons e nos maus momentos, obrigado pai, mãe e minhas irmãs, chegar até aqui é uma conquista nossa.

A minha amiga, companheira e namorada Renata Santos. Obrigado por todo apoio durante esses anos, sem sua ajuda dificilmente eu estaria vivendo esse momento na minha vida.

Aos mestres e colegas de curso com quem tive o prazer de compartilhar vários momentos durante esses últimos anos, levarei cada um em meus pensamentos.

A minha segunda casa. Ao LABMEX. Agradeço a minha orientadora, Mariana Pinheiro Fernandes, por me abrir as portas e me acolher como aluno. Agradeço aos meus queridos amigos por tudo que tive a oportunidade de viver com cada um dentro do laboratório, vocês foram essenciais.

“Um pouco de ciência nos afasta de
Deus. Muito, nos aproxima”

Louis Pasteur

RESUMO

O desbalanço nutricional e a inatividade física emergem como as principais causas de doenças associadas ao sobrepeso e obesidade. Estudos demonstram que o consumo materno de dieta com alto teor de gordura altera o crescimento hepático e aumenta o estresse oxidativo. O objetivo deste trabalho foi avaliar as influências da atividade física voluntária materna durante períodos críticos do desenvolvimento, sobre o metabolismo hepático da prole submetida a uma dieta hiperlipídica do período pós-desmame a fase adulta jovem. Para isto, 13 ratas da linhagem *Wistar* foram colocadas individualmente em gaiolas de atividade física voluntária (GAFV) por um período de 30 dias, para a adaptação, recebendo dieta de laboratório (LABINA[®]). Após esse período, as ratas foram classificadas em três grupos experimentais: inativo, ativo e muito ativo. Após a classificação, as ratas foram acasaladas, e quando detectada a presença de espermatozoide na cavidade vaginal, os animais foram recolocados individualmente nas GAFV. Os cicloergômetros foram travados ao 14^o dia pós-natal. Pós desmame, as proles foram divididas em dois grupos, de acordo com a dieta ofertada. Os animais receberam dieta LABINA (controle) ou hiperlipídica (dieta ocidentalizada) até atingirem a idade de realização do protocolo experimental. Aos 70 dias de vida, os animais foram decapitados por guilhotina para a remoção do tecido hepático. Posteriormente, foi avaliada a massa corporal total, do tecido hepático e atividade de enzimas chaves das principais vias bioenergéticas: fosfofrutoquinase 1 (PFK1), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), β -hidroxyacil-CoA desidrogenase (β -HAD), citrato sintase, e ácido graxo sintase (FAS). Nossos resultados não mostraram diferenças significativas entre os grupos em relação a massa corporal total e do fígado. No entanto, ao analisarmos a atividade enzimática da PFK foi observado aumento na prole de ratas ativas ($7,32 \pm 0,8$ nmol/min/mg de proteína, n=6, p<0,0001) e na prole de ratas muito ativas ($14,35 \pm 2,57$ nmol/min/mg de proteína, n=5, p<0,0001) quando comparadas com os animais de ratas sedentárias ($3,91 \pm 0,29$ nmol/min/mg de proteína, n=4). Observamos também, aumento na atividade da G6PDH na prole de ratas muito ativas ($76,6 \pm 1,8$ nmol/min/mg de proteína, n=4, p<0,05) quando comparados com a prole de ratas sedentárias ($42,12 \pm 3,49$ nmol/min/mg de proteína, n=4). A atividade da β -Had foi maior na prole de ratas muito ativas ($0,21 \pm 0,05$ nmol/min/mg de proteína, n=6, p<0,0001) quando comparado com a prole de ratas sedentárias ($0,03 \pm 0,009$ nmol/min/mg de proteína, n=4). De forma contrária, observamos redução na atividade da ácido graxo sintase na prole de ratas ativas ($0,06 \pm 0,01$ nmol/min/mg de proteína, n=7, p<0,0001) e nos animais de prole muito ativas ($0,01 \pm 0,007$ nmol/min/mg de proteína, n=7, p<0,0001) quando comparados com a prole de ratas sedentárias ($0,12 \pm 0,01$ nmol/min/mg de proteína; n=4). Em relação a atividade do ciclo de Krebs, foi observado um aumento na atividade da citrato sintase na prole de ratas muito ativas ($33,35 \pm 2,9$ nmol/min/mg de proteína, n=5, p<0,05) quando comparados com a prole de ratas sedentárias ($20,73 \pm 1,01$ nmol/min/mg de proteína; n=5). Assim, os resultados sugerem que os benefícios da atividade física voluntária materna são repassados para a descendência mesmo quando a ela é imposto um insulto nutricional.

Palavras-chave: Atividade física. Metabolismo energético. Dieta rica em gordura. Fígado.

ABSTRACT

Nutritional imbalance and physical inactivity emerge as the main causes of diseases associated with overweight and obesity. Studies have shown that maternal consumption of a high-fat diet alters liver growth and increases oxidative stress. The objective of this study was to evaluate the influence of voluntary maternal physical activity during critical periods of development on the hepatic metabolism of offspring submitted to hyperlipidic diet from the post-weaning period to the young adult stage. For this, 13 *Wistar* rats were placed individually in voluntary physical activity cages (VPAC) for a period of 30 days, for adaptation, receiving standard laboratory diet (LABINA[®]). After this period, the rats were classified on three experimental groups: inactive, active and very active. After the classification, the rats were mated, and when the presence of spermatozoa was detected in the vaginal cavity, the animals were individually reassembled in the VPAC. The cycle ergometers were locked at the 14th postnatal day. After weaning, the offspring were divided into two groups, according to the diet offered. The animals received LABINA[®] (control) diet or hyperlipidic (Westernized diet) until reaching the age of experimental protocol. At 70 days of age, animals were decapitated by guillotine to remove hepatic tissue. Subsequently, total body mass, liver tissue and key enzyme activity of the main bioenergetic pathways were evaluated: phosphofructokinase 1 (PFK1), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), β -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (β -HAD), citrate synthase, and fatty acid synthase (FAS). Our results showed no significant difference between the groups in relation to total body mass and liver. However, we verified greater PFK-1 activity in the offspring of active rats (7.32 ± 0.8 nmol/min/mg protein, $n = 6$, $p < 0.0001$) and very active offspring (14.35 ± 2.57 nmol/min/mg protein, $n = 5$, $p < 0.0001$) when compared to the animals of sedentary rats (3.91 ± 0.29 nmol/min/mg protein, $n = 4$). We also observed G6PDH activity increase in the offspring of very active rats (76.6 ± 1.8 nmol/min/mg protein, $n = 4$, $p < 0.05$) when compared to the sedentary rats offspring (42.12 ± 3.49 nmol/min/mg protein, $n = 4$). β -HAD activity was higher in the offspring of very active rats (0.21 ± 0.05 nmol/min/mg protein, $n = 6$, $p < 0.0001$) when compared to the offspring of sedentary rats (0.03 ± 0.009 nmol/min/mg protein, $n = 4$). In contrast, we observed a reduction on the fatty acid synthase activity in the offspring of active rats (0.06 ± 0.01 nmol/min/mg of protein, $n = 7$, $p < 0.0001$) and very active offspring (0.01 ± 0.007 nmol/min/mg protein, $n = 7$, $p < 0.0001$) when compared to the offspring of sedentary rats (0.12 ± 0.01 nmol/min/mg protein, $n = 4$). In relation to Krebs cycle activity, it was observed an increase on the citrate synthase activity in the offspring of very active rats (33.35 ± 2.9 nmol/min/mg protein, $n = 5$, $p < 0.05$) when compared to the offspring of sedentary rats (20.73 ± 1.01 nmol/min/mg protein, $n = 5$). Thus, the results suggest that the benefits of voluntary maternal physical activity are passed on to offspring even when it is imposed a nutritional insult.

Keywords: Physical activity. Energy metabolism. High fat diet. Liver.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 - Resultados da massa corporal total (A) e do fígado (B) das proles de ratas sedentárias, ativas e muito ativas.....	24
Gráfico 2 - Atividade das enzimas metabólicas Fosfofrutoquinase 1 (PFK-1).....	26

LISTA DE ABREVIÇÕES

AMP	Adenosina Monofosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
BSA	Albumina de soro bovino
CoA	Conezima A
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DTNB	5,5'-Ditiobis- (ácido 2-nitrobenzóico)
DTT	1,4-Dithiothreitol
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
FAS	Ácido graxo sintase
G6PDH	Glicose 6- fosfato desidrogenase
GAFV	Gaiola de atividade física voluntaria
H ⁺	Hidrogênio
H ₂ O	Água
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kcal	Quilocaloria
Km	Quilômetro
Mg	Miligrama
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
Min	Minuto
mL	Mililitro
mM	Milimolar
MTTP	Proteína de transferência de triglicerídeos microssomais
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (estado reduzido)
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo fosfato (forma reduzida)
Nmo	Nanomolar
PFK1	Fosfofrutoquinase - 1
PGC-1 α	Coativador 1-alfa do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma
pH	Potencial hidrogeniônico
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonila
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
TFAM	Fator de Transcrição Mitocrandial

Tris-HCl	Hidroximetil
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
β -HAD	β – hidroxiacil - CoA – desidrogenase
U/mg	Unidade por miligrama
μ g/mL	Micrograma por mililitro
mmol/min/mg	Milimol por minutos por miligrama
DHGNA	Doença Hepática Gordurosa não Alcoólica

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios para classificação das ratas quanto ao nível de atividade física	19
Tabela 2- Avaliação do efeito da atividade física voluntária materna sobre a atividade de enzimas metabólicas no fígado da prole.	25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 TRANSIÇÃO NUTRICIONAL	13
2.2 FÍGADO E DIETA HIPERLIPÍDICA.....	14
2.3 ATIVIDADE FÍSICA.....	15
3 OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo Geral:	17
3.2 Objetivos Específicos:	17
4 METODOLOGIA.....	18
4.1 ANIMAIS.....	18
4.2 PROTOCOLO DE ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA E DIETA EXPERIMENTAL	18
4.3 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPORAL	19
4.4 COLETA DO TECIDO HEPÁTICO PARA POSTERIORES ANÁLISES.....	19
4.5 PREPARO DO HOMOGENEIZADO DO TECIDO HEPÁTICO PARA UTILIZAÇÃO NAS TÉCNICAS BIOQUÍMICAS	20
4.6 DOSAGEM DE PROTEÍNA.....	20
4.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA FOSFOFRUTOQUINASE 1 (PFK1).....	20
4.8 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE	21
4.9 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA β -HIDROXYACIL-COA DESIDROGENASE (β -HAD).....	21
4.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ÁCIDO GRAXO SINTASE.....	22
4.11 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA CITRATO SINTASE	22
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
6 CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	34

1 INTRODUÇÃO

A preferência por alimentos palatáveis, ricos em carboidratos simples e gordura economicamente favoráveis, e a baixa procura por alimentos de origem animal e outros como raízes e grãos, define o padrão alimentar mundial, direcionado à maior obtenção de energia através de alimentos ricos em gordura (DREWNOWSKI; POPOKIN, 1997). À medida que a transição nutricional cresce, concomitante a ela aumentam-se as doenças crônicas não transmissíveis (POPOKIN, 2015).

O desbalanço nutricional e a inatividade física emergem como as causas das doenças associadas ao sobrepeso e obesidade. Dentre elas destaca-se a diabetes mellitus tipo II, que está associada ao aumento da deposição de gordura no fígado, levando a disfunção hepática (TIRAPEGUI, 2003; YKI-JÄRVINEN, 2015). Os mecanismos para tais alterações ainda não são totalmente elucidados, mas podem ser decorrentes de estímulos ambientais (fenótipo) que repercutem no desenvolvimento dos sistemas orgânicos (genótipo) durante períodos críticos do desenvolvimento, de forma persistente (LEANDRO *et al.*, 2009).

A atividade física durante gestação e lactação, surge como um importante componente no combate ao aumento da prevalência de diabetes e obesidade (STANFORD, 2015). Estudos com camundongos demonstraram que a atividade física materna é capaz de atenuar o volume de massa gorda e os níveis de leptina em seus descendentes (SHELDON *et al.*, 2016; FERRARI *et al.*, 2018), além disso a atividade física materna durante a gestação parece ser capaz de induzir na prole maior propensão para um estilo de vida ativo, sendo assim, um importantes fator para o combate da inatividade física e obesidade (ECLARINAL *et al.*, 2016).

Diante disto, nosso trabalho teve como proposta avaliar as influências da atividade física voluntária materna durante períodos críticos do desenvolvimento, sobre o metabolismo hepático da prole submetida a uma dieta hiperlipídica pós-desmame a fase de adulto jovem, na tentativa de entender se os efeitos benéficos da atividade física voluntária materna são transmitidos aos seus descendentes, e se são capazes de tornar o animal mais resistente a fatores externos, como por exemplo, um insulto nutricional.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 TRANSIÇÃO NUTRICIONAL

A implementação de políticas socioeconômicas no Brasil teve como objetivo reduzir a desigualdade social e a fome (FREITAS, 2014). Entretanto, o aumento no consumo de alimentos ultra processados, altamente calóricos e de baixa qualidade nutricional, associado a um estilo de vida sedentário, acarretaram em menor dispêndio energético e aumento da massa corporal. Por consequência, houve um rápido declínio da desnutrição e um vertiginoso aumento na prevalência de sobrepeso e obesidade na população brasileira (POPOKIN, 2001).

Uma provável consequência das mudanças no comportamento alimentar, é o aumento na incidência de doenças crônico-metabólicas, uma vez que a deficiência de micronutrientes continuam sendo um problema de saúde nos países em desenvolvimento (CAI, 2014). Doenças cardíacas e diabetes estão relacionadas ao frequente desequilíbrio energético entre o consumo de alimentos ricos em energia e a redução do gasto físico diário, características que são cada vez mais comuns na população de países em desenvolvimento (MAIRE, 2002).

Os resultados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), responsável por caracterizar o perfil nutricional da população brasileira em 2008-2009, indicaram mudanças no padrão alimentar da população. O consumo de gordura saturada cresceu em relação ao de proteínas (IBGE, 2010). Em uma pesquisa realizada por Carvalho (2013), ratas fêmeas da linhagem *Wistar* foram submetidas a uma dieta baseada na POF, durante a gestação e lactação. Como resultado, os animais tiveram seu desempenho reprodutor afetado, assim como o crescimento e desenvolvimento de seus filhotes. Além disso, o uso de dieta ocidentalizada com altos teores lipídicos no início da vida pode alterar a homeostase da glicose, aumentando o risco de desenvolvimento de diabetes e alteração no metabolismo lipídico, caracterizando riscos de distúrbios metabólicos na idade adulta (CAVALCANTE *et al.*, 2014).

2.2 FÍGADO E DIETA HIPERLIPÍDICA

O fígado, maior víscera do corpo humano, está localizado na região superior direita da cavidade abdominal, correspondendo a aproximadamente 3% da massa corporal total (ABDEL-MISIH; BLOOMSTON, 2010). Ele é um órgão de suma importância para diversas funções fisiológicas essenciais. O papel do fígado no controle do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios é enfatizado na homeostase de lipídeos e colesterol, deposição de glicose na forma de glicogênio (quando o aporte energético é maior que o despendido), e biodisponibilidade de glicose em durante a privação energética e na formação de ureia e proteínas plasmáticas (TREFTS; GANNO; WASSERMAN, 2017).

A doença hepática gordurosa não alcoólica é a causa mais comum de doença hepática e está relacionada ao acúmulo progressivo de gordura no fígado, de forma crônica (LOOMBA; SANYAL, 2013). A hiperatividade da lipogênese hepática (produção de lipídios a partir de carboidrato e proteína) está associada ao distúrbio do acúmulo excessivo de gordura (SANDERS; GRIFFIN, 2016). Isso sugere que não só os lipídeos, mas também o carboidrato em excesso, pode modular a deposição lipídica no fígado (SILVA-SANTI *et al.* 2016).

O acúmulo de metabólitos tóxicos derivados de triglicérides em tecidos ectópicos como o fígado, resultando em lipotoxicidade seguido de ativação de vias inflamatórias, disfunção celular e apoptose, resultando na doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (CUSI, 2012). A prevalência da DHGNA é maior em populações com disfunções metabólicas preexistentes, como obesidade e diabetes tipo II. Com a crescente epidemia de sobrepeso e obesidade, a prevalência e o impacto da DHGNA continuam aumentando, e tornando-se a causa mais comum de doença hepática avançada para as próximas décadas (VERNON; BARANOVA; YOUNOSSI, 2011).

Estudos com camundongos C57BL/6 demonstraram que o consumo materno de dieta com alto teor de gordura alterou o crescimento hepático e aumentou o estresse oxidativo, o que pode contribuir para a desregulação da homeostase do colesterol de seus descendentes (KIM, 2016). Carmiel-Haggai e colaboradores (2005) observaram que uma dieta rica em gordura leva à progressão da DHGNA em

ratos obesos. Além disso, estudos relatam que pacientes com DHGNA apresentam maior risco para o desenvolvimento de aterosclerose, mortalidade cardiovascular e mortalidade geral em comparação com a população em geral (PERAZZO; POYNARD; DUFOUR, 2014). Ademais, sabe-se que o consumo excessivo de lipídeos desde os períodos iniciais da vida induz DHGNA (HUANG *et al.*, 2016).

2.3 ATIVIDADE FÍSICA

A atividade física é definida como todo movimento articular gerado pela ação do músculo esquelético, que promove aumento da necessidade calórica acima do gasto energético em repouso (CASPERSEN, 1985). Ao longo do desenvolvimento humano observou-se que ser fisicamente ativo é um dos principais pilares para uma vida saudável, por outro lado, a inatividade física está associada com aumento da morbidade e mortalidade associadas ao estilo de vida sedentário. Assim, ser fisicamente ativo é essencial para a manutenção da integridade e funções fisiológicas ao longo da vida (HARRIDGE; LAZARUS, 2017).

A atividade física atua sobre o metabolismo de repouso, visto que afeta uma série de hormônios que controlam a taxa metabólica e a fome. Com isso, a atividade física tem a capacidade de influenciar na ingestão alimentar (CARTER, 2012; MUNIZ, 2014). Recomenda-se que mulheres gestantes e puérperas saudáveis pratiquem atividade física aeróbica regularmente ao menos 150 minutos por semana (na maioria dos dias ou todos os dias) em intensidades que podem variar de moderada a vigorosa (FERRARI; GRAF, 2017).

Evidências sugerem que a atividade física materna está relacionada a melhorias nos parâmetros metabólicos a longo prazo na prole, incluindo melhor captação de glicose e mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo (CARTER *et al.* 2012). Além disso, a atividade física voluntária materna parece ser capaz de reduzir a suscetibilidade à esteatose hepática induzida por dieta com alto teor de lipídeos na prole (SHELDON *et al.* 2016). A atividade física materna não é só benéfica durante a gestação, mas também durante a lactação, e tem a capacidade de atenuar os efeitos prejudiciais de uma dieta hiperlipídica materna no perfil metabólico da prole, tornando a prática de atividade física antes e durante a gravidez

um componente crítico para combater as crescentes taxas de diabetes e obesidade (STANFORD, 2015).

Visto que a atividade física materna é segura e saudável tanto para mãe como para a prole (PERALES *et al.*, 2016), a mesma representa uma intervenção atraente para influenciar positivamente o ambiente intrauterino e melhorar a saúde metabólica da prole (HARRIS; BAER; STANFORD, 2018), como também proporciona melhora no desenvolvimento cognitivo da prole (ÁLVAREZ-BUENO, 2018). Desse modo, a promoção de um estilo de vida materno ativo surge como condição preventiva para os futuros desafios ambientais que possam ser impostas a prole, tais como um ambiente rico em dietas hiperlipídicas. Assim, podemos concluir que é segura a prática de atividade física durante gestação e lactação, uma vez que a atividade física promove benefícios que podem ser duradouros e essenciais para a saúde da prole.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Avaliar as influências da atividade física voluntária materna de ratas durante períodos críticos do desenvolvimento sobre o metabolismo hepático da prole submetida a uma dieta hiperlipídica do período pós-desmame a fase de adulto jovem.

3.2 Objetivos Específicos:

Avaliar o peso corporal dos animais e do fígado;

Avaliar no tecido hepático da prole, a atividade de enzimas chaves das principais vias metabólicas de carboidrato e lipídeos:

- Fosfofrutoquinase 1 (PFK1);
- Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH);
- β -hidroxyacil-CoA desidrogenase (β -HAD);
- Ácido graxo sintase (FAS)
- Citrato sintase;

4 METODOLOGIA

4.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 13 ratas albinas da linhagem *Wistar* (massa corporal 220-260g, idade entre 85-95 dias) provenientes da colônia do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação, em condições padronizadas e livre acesso à água e alimentação. O manejo e os cuidados para com os animais seguiram as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animal do Centro de Ciências Biológicas da UFPE (23076.017125/2017-47).

4.2 PROTOCOLO DE ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA E DIETA EXPERIMENTAL

Na gaiola de atividade física voluntária (GAFV) foi acoplado em sua extremidade um cicloergômetro com sistema de monitoramento por sensor (ciclocomputador Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan) que viabiliza o registro das seguintes grandezas físicas: distância percorrida em quilômetro (km), tempo de atividade em minuto (mim) e estimativa do gasto calórico em quilocaloria (kcal). A atividade física das ratas foi avaliada pela movimentação do cicloergômetro, de onde eram extraídos os dados registrados diariamente de acordo com Ferro Cavalcante (2013). As ratas nulíparas (n=13) foram colocadas individualmente nas GAFV por um período de 30 dias para a adaptação e receberam durante o período dieta LABINA[®]. Após esse período, as ratas foram classificadas de acordo com a tabela 1, segundo Carvalho e colaboradores (2013).

Tabela 1 - Critérios para classificação das ratas quanto ao nível de atividade física

Classificação	N	Distância percorrida(km/dia)	Tempo de atividade (min/dia)	Estimativa do gasto calórico (kcal/dia)
Inativo	3	≤1.0	≤20.0	≤10.0
Ativo	5	>1.0 ≤5.0	>20.0 ≤120.0	>10.0 ≤40.0
Muito ativo	5	>5.0	>120.0	>40.0

Fonte: Pereira, A. R., 2019.

Após a classificação as ratas foram colocadas em gaiola padrão de biotério feita de polipropileno (33x40x17cm) para o acasalamento, quando detectada a presença de espermatozoide na cavidade vaginal (MARCONDES *ET AL.*, 2002), os animais foram recolocados individualmente nas GAFV. Os cicloergômetros foram travados ao 14º dia pós-natal. Pós desmame, as proles foram divididas em dois grupos, de acordo com a dieta ofertada. Os animais receberam dieta LABINA® (controle) e dieta hiperlipídica baseada no POF. A composição nutricional da dieta controle foi: 25g de proteínas, 53,7g de carboidratos, 4,3g de lipídeos e 17g de microcomponentes. A composição da dieta hiperlipídica foi de: 23,9g de proteína, 51,6g de carboidratos, 14,1g de lipídeos e 10,4g de microcomponentes até atingirem 70 dias de idade (FERRO CAVALCANTE *et al.*, 2013)

4.3 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPORAL

A massa corporal da prole foi obtida aos 70 dias de vida pós-natal, e o peso foi registrado utilizando balança digital Marti® modelo AY220.

4.4 COLETA DO TECIDO HEPÁTICO PARA POSTERIORES ANÁLISES

Aos 70 dias de vida, os animais foram decapitados por guilhotina para a remoção do tecido hepático. Logo após a remoção, o tecido foi pesado em uma balança de precisão, e os valores da massa foram registrados em gramas (g).

4.5 PREPARO DO HOMOGENEIZADO DO TECIDO HEPÁTICO PARA UTILIZAÇÃO NAS TÉCNICAS BIOQUÍMICAS

O tecido hepático foi homogeneizado em tampão de extração (Tris base 50 mM, pH 7,4; EDTA 1 mM; ortovanadato de sódio 1 mM; PMSF 2 mM). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 1.180 g, a 4° C, por 10 minutos e o sobrenadante foi submetido a quantificação proteica e utilizado para as análises metabólicas.

4.6 DOSAGEM DE PROTEÍNA

A concentração de proteína foi determinada pelo método de BRADFORD *et al.* (1976). O princípio do método baseia-se na determinação da concentração de ligações peptídicas através da medida da absorbância do complexo proteína-corante. Este complexo absorve em comprimento de onda de 595 nm. A absorbância é considerada diretamente proporcional à concentração de proteína na solução analisada, onde uma solução de BSA (2mg/mL) foi utilizada como padrão.

4.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA FOSFOFRUTOQUINASE 1 (PFK1)

A fosfofrutoquinase 1 é a enzima que catalisa a fosforilação da frutose-6-fosfato gerando frutose-1,6-bifosfato, a terceira reação da via glicolítica. A atividade máxima da enzima foi determinada segundo método descrito por Opie & Newsholme (OPIE e NEWSHOLME, 1967). O sistema de reação consiste de Tris-HCl 50 mM pH 8.0, MgCl₂ 5 mM, EDTA 1.0 mM, mercaptoetanol 5 mM, NADH⁺ 13 mM, ATP 20mM, AMP 10 mM, aldolase 5 mM, glicose-6-fosfato desidrogenase 5 mM e triose-fosfato-isomerase 5mM, ao qual foi adicionada a amostra, (0.08 mg de proteína) em um volume final de 0,25 mL. O ensaio teve início pela adição do substrato (frutose-6-fosfato 1mM) e para determinar a atividade enzimática foram realizadas 14 leituras a cada 10 segundos a uma temperatura de 25°C, a 340 nm em espectrofluorímetro

modelo FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA). Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína.

4.8 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) catalisa a primeira reação do shunt da hexose-monofosfato, a via das pentoses. A atividade máxima foi avaliada pelo método descrito por Bergmeyer *et al.* (1972). O sistema de reação enzimático contém Tris-HCl 86 mM, MgCl_2 6,9 mM, NADPH^+ 0,4 mM, glicose-6-fosfato 1,2 mM, Triton X-100 0,05 % (v/v), pH 7,6. Foi adicionado ao sistema de reação, 0,08 mg de proteína total e o ensaio foi iniciado pela adição do substrato (glicose-6-fosfato). As determinações enzimáticas foram realizadas a 25°C, por 4 min, a 340 nm em um volume final de 0,25mL, em espectrofluorímetro modelo FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA). Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína.

4.9 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA β -HIDROXYACIL-COA DESIDROGENASE (β -HAD)

A atividade da β -HAD foi determinada segundo Ito (ITO *et al.*, 2010). Essa enzima possui especificidade absoluta para o isômero L do substrato com a hidroxiacila, converte a hidroxila em C-3 em uma cetona e gera NADH. Sua atividade foi avaliada em espectrofluorímetro FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA) a um comprimento de onda de 340nm a 25°C, para um volume final de 0,25mL. Foi preparada uma solução de Imidazol a 50 mM, depois um mix de reação (Imidazol 50mM + EDTA 12mM + NADH 0,18mM). Após incubação por 1 min do mix de Reação com 0,08 mg proteína de cada amostra foi adicionado acetoacetil-CoA 0,1mM para iniciar a reação. Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína.

4.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ÁCIDO GRAXO SINTASE

A atividade da ácido graxo sintase foi avaliada seguindo a diminuição na absorbância a 340 nm resultante da oxidação de NADPH dependente da adição de malonil-CoA. Cada reação conteve 0,08 mg de proteína, 0,1 M de fosfato de potássio, 0,025 mM de acetil-CoA, 0,18 mM de NADPH, 3 mM de EDTA, 1 mM de DTT e 24 mg de albumina, mantidos a 25°C. A reação foi iniciada pela adição do substrato da enzima (GOODRIDGE, 1972) e a leitura realizada em espectrofluorímetro modelo FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA). Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína.

4.11 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA CITRATO SINTASE

A citrato sintase é uma enzima importante do ciclo de Krebs, pois catalisa a entrada de carbono neste ciclo. A enzima catalisa a reação: oxaloacetato + acetil-CoA + H₂O gerando citrato + CoA + H⁺. A atividade máxima da enzima foi determinada segundo Alp, a partir da quantificação do complexo formado entre a CoA liberada com o DTNB do meio (ALP, NEWSHOLME e ZAMMIT, 1976). O tampão de ensaio contém Tris-aminometano 50 mM (pH 8,1), EDTA 1 mM, DTNB 0,2 mM, acetil-CoA 0,1 mM, oxaloacetato 0,5 mM e Triton X-100 0,05% (v/v) 0,08 mg de proteína. A reação foi iniciada pela adição de oxaloacetato ao meio, a atividade enzimática foi avaliada em 14 leituras por amostra, cada leitura teve o tempo de 10 segundos e temperatura de 25°C, a 412 nm em espectrofluorímetro modelo FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA). Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

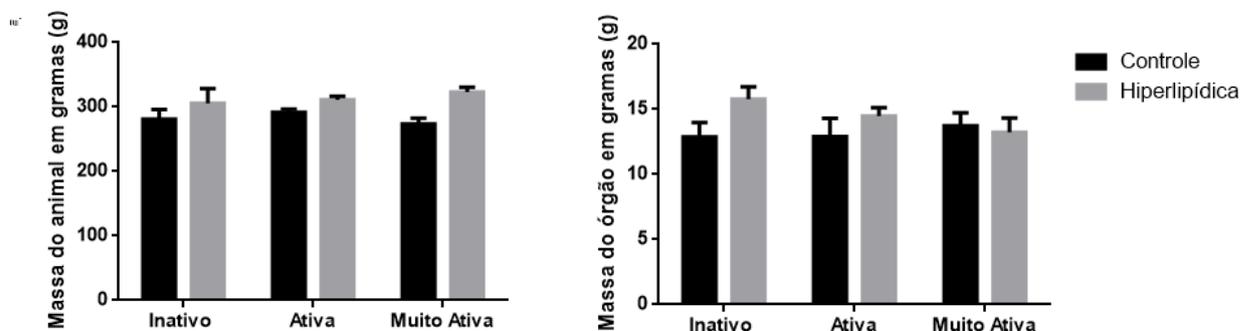
Os dados foram analisados estatisticamente através do software GraphPad Prism 5® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Inicialmente foi utilizado o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, para comparação entre os grupos foi

utilizado o teste ANOVA Two-way, tendo como fatores a dieta e a atividade física. Para o post-hoc test, foi utilizado o teste de Tukey, considerando significativo $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antes da eutanásia verificamos a massa corporal total e do fígado das proles na tentativa de compreendermos se os níveis de atividade física voluntária materna seriam capazes de modular esses parâmetros na prole que recebeu dieta hiperlipídica do período pós-desmame a fase de adulto jovem. Para tal, a massa corporal total da prole de ratas sedentárias, ativas e muito ativas, que tiveram acesso a dieta hiperlipídica foram comparadas com os animais da prole de ratas que receberam dieta controle, contudo não observamos diferenças significativas na massa corporal total, nem na massa do fígado entre os grupos (Figura 1). Nossos resultados não se assemelham aos encontrados por Sheldon e colaboradores (2016), onde os mesmos encontraram diferença na massa corporal total dos animais. Acreditamos que esse resultado é devido ao tempo em que os animais no trabalho do mesmo foram expostos a dieta experimental, totalizando 8 meses de consumo.

Gráfico 1 - Resultados da massa corporal total (A) e do fígado (B) das proles de ratas sedentárias, ativas e muito ativas.



Fonte: Pereira, A. R., 2019.

Valores expressos em gramas (g), representam média ± erro padrão da média. N=4-7 animais por grupo.

Avaliamos as atividades de enzimas chaves no metabolismo de carboidratos e lipídeos, na tentativa de compreender o papel da atividade física voluntária materna durante períodos críticos do desenvolvimento e seus efeitos no metabolismo hepático da prole controle. Nossos dados apontam que os efeitos benéficos da atividade física materna podem ser passados para a prole, uma vez que foi verificado aumento na atividade de enzimas chaves do metabolismo

energético do fígado, associados a uma diminuição da atividade da ácido graxo sintase (FAS) (Tabela 2).

Tabela 2- Avaliação do efeito da atividade física voluntária materna sobre a atividade de enzimas metabólicas no fígado da prole.

ENZIMAS	PFK	G6PDH	β -HAD	FAS	Citrato sintase
Controle Sedentária	2,422 \pm 1,501	31,116 \pm 5,161	0,013 \pm 0,007	0,067 \pm 0,024	16,685 \pm 2,057
Controle Ativa	6,245 \pm 1,219***	51,587 \pm 2,808*	0,049 \pm 0,011*	0,025 \pm 0,007*	20,6010 \pm 1,894*
Controle Muito Ativa	10,603 \pm 0,982***	71,337 \pm 3,206*	0,107 \pm 0,021*	0,025 \pm 0,007***	24,778 \pm 2,669**

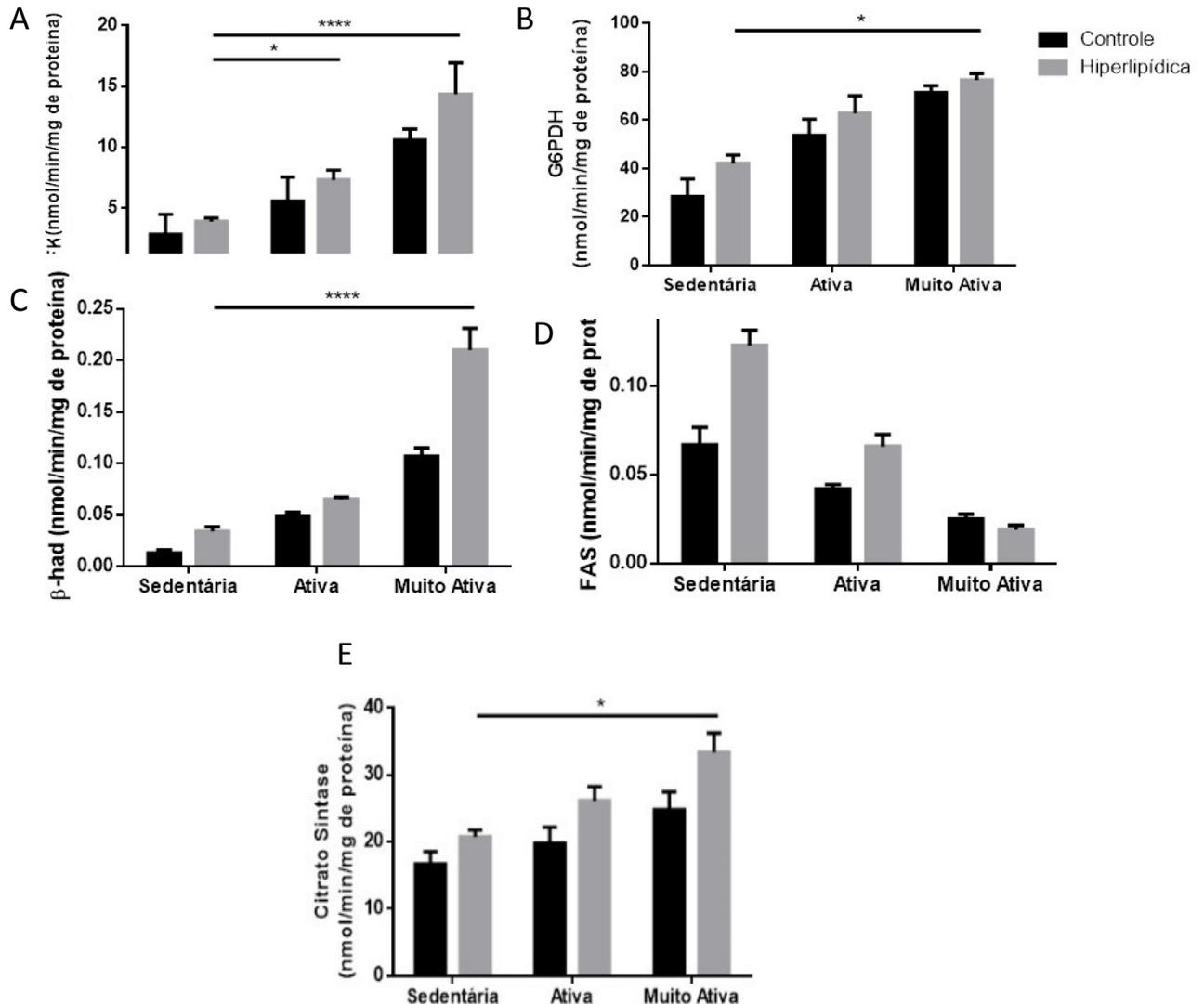
Fonte: Pereira, A. R., 2019.

Valores de média expressos em nmol/min/mg de proteína. Dados expressos com média \pm DP. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Teste ANOVA one-way e post teste de Tukey. Os grupos controle ativa e muito ativa foram comparados com o grupo controle sedentária. N=6-9 animais por grupo.

Ao analisarmos os efeitos da atividade física voluntária materna sobre a atividade de algumas enzimas chaves na regulação do metabolismo energético no fígado da prole alimentada com dieta hiperlipídica, observamos um aumento de 87,21% na atividade de PFK-1 (Figura 2A) na prole de ratas ativas ($7,32 \pm 0,8$ nmol/min/mg de proteína, $p < 0,05$) e 3,6 vezes na prole de ratas muito ativa ($14,35 \pm 2,57$ nmol/min/mg de proteína, $p < 0,0001$) quando comparadas com os animais provenientes de mães sedentárias ($3,91 \pm 0,29$ nmol/min/mg de proteína). Observamos também, aumento na atividade da G6PDH de 81,6% na prole de ratas muito ativas ($76,6 \pm 1,8$ nmol/min/mg de proteína, $p < 0,05$) quando comparados com a prole de ratas sedentárias ($42,12 \pm 3,49$ nmol/min/mg de proteína) (Figura 2B). A atividade da β -Had foi 7 vezes maior na prole de ratas muito ativas ($0,21 \pm 0,05$ nmol/min/mg de proteína, $p < 0,0001$) quando comparado com a prole de ratas sedentárias ($0,03 \pm 0,009$ nmol/min/mg de proteína) (Figura 2C). De forma contrária, observamos redução de 2 vezes na atividade da ácido graxo sintase na prole de ratas ativas ($0,06 \pm 0,01$ nmol/min/mg de proteína, $p < 0,0001$) e de 12 vezes nos animais provenientes de mães muito ativas ($0,01 \pm 0,007$ nmol/min/mg de proteína, $p < 0,0001$) quando comparados com a prole de ratas sedentárias ($0,12 \pm 0,01$ nmol/min/mg de proteína) (Figura 2D). Em relação a atividade do Ciclo de Krebs (rota central do metabolismo energético) foi observado um aumento de 60% na

atividade da citrato sintase na prole de ratas muito ativas muito (33,35 ± 2,9 nmol/min/mg de proteína, $p < 0,05$) quando comparados com a prole de ratas sedentárias (20,73 ± 1,01 nmol/min/mg de proteína) (Figura 2E).

Gráfico 2 - Atividade das enzimas metabólicas Fosfofrutoquinase 1 (PFK-1)



Fonte: Pereira, A. R., 2019.

(A); Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) (B); β -hidroxyacil-CoA desidrogenase (β -Had) (C); Ácido Graxo Sintase (FAS) (D); Citrato Sintase (E) no fígado da prole alimentada com dietas hiperlipídica ou controle descendentes de ratas sedentárias, ativas e muito ativas. Valores expressos em nmol/min/mg de proteína, representam média \pm erro padrão da média. N=4-7 animais para cada grupo. * $p < 0,05$ e **** $p < 0,0001$.

Os dados apresentados apontam que os efeitos benéficos da atividade física voluntária materna, no metabolismo hepático, podem ser passados para a prole mesmo quando essa é exposta a um insulto nutricional. Em nosso estudo

observamos que a atividade física voluntária materna foi capaz de alterar a atividade de algumas enzimas chaves do metabolismo energético do fígado, uma vez que houve aumento na atividade da PFK-1, G6PDH, β -Had e Citrato Sintase, associados a uma diminuição da atividade da FAS.

No metabolismo de carboidratos, a enzima PFK-1 participa da via de degradação da glicose (glicólise), sendo responsável pela conversão da glicose-6-fosfato em frutose 1,6 bifosfato a partir de um processo ATP dependente estritamente regulado. Assim sendo, a atividade da PFK-1 é um dos pontos de regulação da via, e por isso um importante foco de investigação sobre o metabolismo energético da glicose (MOR; CHEUNG; VOUSDEN, 2011). Quando os níveis de ATP estão comprometidos a enzima tem atividade aumentada, com o objetivo de reestabelecer os níveis energéticos (NELSON; COX, 2013). O aumento da atividade da PFK-1 na prole indica que a glicose proveniente da dieta está sendo direcionada para a glicólise (HAN *et al.*, 2016). Desse modo, nossos resultados mostram que a atividade física voluntária materna foi capaz de aumentar a degradação de glicose na prole, mesmo quando esses animais foram submetidos a uma dieta hiperlipídica do período pós-desmame a fase de adulto jovem.

A principal função bioquímica da via oxidativa das pentoses-fosfato é a síntese de ácidos nucleicos, e biomoléculas precursoras de fosfato. Além disso, atua na formação de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH), um agente redutor necessário para contrapor os efeitos danosos do estresse oxidativo (STINCONE *et al.*, 2015). Diante dessas importantes funções, a regulação da via das pentoses-fosfato foi um dos nossos alvos de investigação. A Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) é reguladora da via das pentoses fosfato, responsável pela produção de NADPH, uma coenzima fundamental para atividade celular (STANTON, 2012). Sabendo que o NADPH é importante em vários sistemas biológicos essenciais (STANTON, 2012), nossos resultados de maior atividade de G6PDH indicam que a atividade física voluntária materna pode atenuar os efeitos deletérios da dieta hiperlipídica na prole pelo o aumento dos níveis de NADPH, coenzima importantíssima, por exemplo, no ciclo das glutatíoninas, que compõem o sistema antioxidante não enzimático.

Em relação a avaliação do metabolismo lipídico, apresentamos dados que se assemelham aos encontrados por Sheldon e colaboradores (SHELDON *et al.* 2016)

quanto a avaliação da atividade da FAS e da β -Had onde a prole adulta, provenientes de mães que praticam exercícios físicos durante a gestação, quando exposta a dieta rica em gordura demonstrou atividade reduzida da FAS e aumentada da B-Had. Os resultados apresentados em nosso trabalho sugerem que a atividade física voluntária materna foi capaz de reverter os prejuízos da dieta hiperlipídica no metabolismo lipídico da prole. A baixa atividade da FAS pode ser associada a menor expressão de mRNA da enzima (QUICLET, 2017). Assim a baixa atividade de FAS em conjunto com aumento na atividade de β -Had podem contribuir para uma menor taxa de gordura no fígado, prevenindo um quadro de esteatose hepática nesses animais (PAGLIALUNGA, *et al.* 2016).

A avaliação da atividade do ciclo de Krebs é importantíssima para o estudo do metabolismo energético celular e para isso, foi avaliada a atividade da citrato-sintase que é uma importante enzima desse ciclo, formando citrato a partir da condensação de acetil-CoA e oxalacetato (NELSON; COX, 2013). Em um estudo de White e colaboradores (WHITE, 2016) foi demonstrado que a atividade física é responsável pelo aumento na atividade dessa enzima. Nossos resultados demonstraram que os efeitos da atividade física voluntária materna sobre a atividade da citrato sintase é passado para a prole, mesmo quando esta é submetida a um ambiente nutricional adverso. A prole de mães muito ativas apresentou um aumento na atividade de citrato-sintase, sendo esse um indicativo do melhor funcionamento do ciclo do ácido cítrico, favorecendo o metabolismo oxidativo no fígado desses animais.

6 CONCLUSÃO

Nesse estudo, identificamos o papel da atividade física voluntária materna no período de gestação e lactação no metabolismo energético do fígado de sua prole alimentada por uma dieta hiperlipídica do período pós desmame até a fase de adulto jovem. Os resultados aqui apresentados sugerem que os benefícios da atividade física voluntária materna são repassados para a descendência mesmo quando a ela é imposto um insulto nutricional. Assim, concluímos que o aumento da capacidade do metabolismo oxidativo, associado a uma baixa atividade de enzimas responsáveis pela síntese de lipídeos indicam um mecanismo protetor da atividade física voluntária materna, sobre o metabolismo hepático da prole alimentada com dieta hiperlipídica.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-MISIH, S. R. Z.; BLOOMSTON, M. Liver anatomy. **Surgical Clinics**, Philadelphia, v. 90, n. 4, p. 643-653, aug. 2010.
- ALP, P R.; NEWSHOLME, e A.; ZAMMIT, V. A. Activities of citrate synthase and nad⁺-linked and nadp⁺-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. **Biochemical Journal**, London, v. 154, n. 3, p. 689-700, mar. 1976.
- ÁLVAREZ-BUENO, C. *et al.* Pregnancy leisure physical activity and children's neurodevelopment: a narrative review. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, Oxford, v. 125, n. 10, p. 1235-1242, sep. 2018.
- ANTUNES FREITAS, D.; SOUSA, A. A.; JONES, K. Development, income transfer strategies, and the nutritional transition in brazilian children from a rural and remote region. **Rural and remote health**, Geelong, v. 14, p. 2632, mar. 2014.
- BERGMEYER, H U. Standardization of enzyme assays. **Clinical Chemistry**, New York, v. 18, n.11, p. 1305-1311, nov 1972.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Washington, v.7, n. 72, p. 248-254, may. 1976.
- BROCARD, P. S. *et al.* Anxiety- and depression-like behaviors are accompanied by an increase in oxidative stress in a rat model of fetal alcohol spectrum disorders: protective effects of voluntary physical exercise. **Neuropharmacology**, Oxford, v. 62, n. 4, p. 1607-1618, mar. 2012.
- CAI, W. Nutritional challenges for children in societies in transition. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, London, v. 17, n. 3, p. 278-284, 2014.
- CARMIEL-HAGGAI, M.; CEDERBAUM, A. I.; NIETO, N. A high-fat diet leads to the progression of non-alcoholic fatty liver disease in obese rats. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 19, n. 1, p. 136-138, nov. 2005.
- CARTER, L. G. *et al.* Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v.15, n. 303, p. 1061-1068, oct. 2012.
- CARVALHO, M. F. *et al.* Experimental diet based on the foods listed in the Family Budget Survey is more detrimental to growth than to the reflex development of rats. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 177-196, abr. 2013.
- CASPERSEN C.J., POWELL K.E. & CHRISTENSON G.M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public health reports**, Washington, v.100, n.2, p.126-136, mar-apr. 1985.
- CAVALCANTE, F. C. F. *et al.* Early exposure of dams to a westernized diet has long-term consequences on food intake and physiometabolic homeostasis of the rat offspring. **Int J Food Sci Nutr**, Basingstoke, v. 65, n.8. p.989- 993, dec. 2014.

CUSI, K. Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 142, n. 4, p. 711-725, apr. 2012.

DA SILVA-SANTI, L. *et al.* Liver fatty acid composition and inflammation in mice fed with high-carbohydrate diet or high-fat diet. **Nutrients**, Basel, v. 8, n. 11, p. 682, oct. 2016.

DREWNOWSKI, A; POPOKIN, B. M. The nutrition transition: new trends in the global diet. **Nutrition reviews**, Oxford, v. 55, n 2, p.31-34, abr. 2009.

ECLARINAL, J. D. *et al.* Maternal exercise during pregnancy promotes physical activity in adult offspring. **The FASEB Journal**, Bethesda v. 30, n. 7, p. 2541-2548, jul. 2016.

FERRARI, N. *et al.* Exercise during pregnancy and its impact on mothers and offspring in humans and mice. **Journal of developmental origins of health and disease**, v. 9, n. 1, p. 63-76, feb. 2018.

FERRARI, N; GRAF, C. Recommendations for Physical Activity During and After Pregnancy. **Gesundheitswesen**, Stuttgart, v. 79, n. S 01, p. S36-S39, mar. 2018.

GOODRIDGE, A. G. Regulation of the activity of acetyl coenzyme A carboxylase by palmitoyl coenzyme A and citrate. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 10, n. 247, p. 6946-6952, nov. 1972.

HAN, H. S. *et al.* Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective. **Experimental & molecular medicine**, Seoul, v. 48, n. 3, p. e218, mar. 2016.

HARRIDGE, S. DR; LAZARUS, N. R. Physical activity, aging, and physiological function. **Physiology**, Bethesda, v. 32, n. 2, p. 152-161, mar. 2017.

HARRIS, J. E., BAER, L. A. & STANFORD, K. I. 2018. Maternal Exercise Improves the Metabolic Health of Adult Offspring. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, New York, v. 29, n. 3, p. 164-177, mar. 2018.

HUANG, Y.H. *et al.* Postnatal high-fat diet increases liver steatosis and apoptosis threatened by prenatal dexamethasone through the oxidative effect. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 17, n. 3, p. 369, mar. 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares: Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

ITO, M. *ET AL.* 2010. High levels of fatty acids increase contractile function of neonatal rabbit hearts during reperfusion following ischemia. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, Bethesda, v. 298, n. 5, p. 1426-1437, may. 2010.

KIM, J., KIM, J., & KWON, Y. H. Effects of disturbed liver growth and oxidative stress of high-fat diet-fed dams on cholesterol metabolism in offspring mice. **Nutrition Research and Practice**, Los Angeles, v. 10, n. 4, p. 386-392, aug. 2016.

- LEANDRO, C. G. *et al.* Pode a atividade física materna modular a programação fetal induzida pela nutrição? **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 22, n. 4, p. 559-569, july-aug. 2009.
- LOOMBA, R.; SANYAL, A. J. The global NAFLD epidemic. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, London, v. 10, n. 11, p. 686-690, nov. 2013.
- MAIRE, B. *et al.* Nutritional transition and non-communicable diet-related chronic diseases in developing countries. **Sante**, Montrouge, v. 12 n. 1, p. 45-55, jan. 2002.
- MARCONDES, F. K., BIANCHI, F. J. & TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 62, n. 4A, p. 609-614, nov. 2002.
- MOR, I.; CHEUNG, E. C.; VOUSDEN, K. H. Control of glycolysis through regulation of PFK1: old friends and recent additions. **Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology**, Woodbry, p. 211-216, nov. 2011.
- NELSON, D. L. & COX, M. M. 2013. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6ª Edição. Porto Alegre: Artmed Editora, 2014. 1259 p.
- OPIE, L. H. & NEWSHOLME, E. A. The activities of fructose 1,6-diphosphatase, phosphofructokinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in white muscle and red muscle. **The Biochemical Journal**, London, v. 103, n. 2, p. 391-399, may. 1967.
- PAGLIALUNGA, S. & DEHN, C. A. 2016. Clinical assessment of hepatic de novo lipogenesis in non-alcoholic fatty liver disease. **Lipids in health and disease**, London, v. 15, n. 1, p. 159, sep. 2016.
- PERALES, M *et al.* Benefits of aerobic or resistance training during pregnancy on maternal health and perinatal outcomes: A systematic review. **Early human development**, Amsterdam, v. 94, p. 43-48, feb. 2016.
- PERAZZO, H.; POYNARD, T.; DUFOUR, J. The interactions of nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular diseases. **Clinics in liver disease**, Hoboken, v. 18, n. 1, p. 233-248, oct. 2014.
- PERKINS, C. C. *et al.* Physical activity and fetal growth during pregnancy. **Obstetrics and Gynecology**, New York, v. 109, n. 1, p. 81-87, jan. 2007.
- POPKIN, B. M. The nutrition transition and obesity in the developing world. **The Journal of nutrition**, Oxford, v. 131, n. 3, p. 871-873, mar. 2001.
- POPOKIN, B. M. Nutrition transition and the global diabetes epidemic. **Current Diabetes Reports**, Philadelphia, v. 15, n. 9, p. 64, sep. 2015.
- QUICLET, C. *et al.* Maternal exercise modifies body composition and energy substrates handling in male offspring fed a high-fat/high-sucrose diet. **The Journal of Physiology**, Oxford, v. 1, n. 595, p. 7049-7062, dec. 2017.
- SANDERS, F. W. B.; GRIFFIN, Julian L. De novo lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, London, v. 91, n. 2, p. 452-468, may. 2016.

SANTANA MUNIZ, G. *et al.* Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. **Physiology & Behavior**, Oxford, v. 129, p. 1-10, apr. 2014.

SCHINONI, M. I. 2016. Fisiologia hepática. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v. 1, n. 145, p. 5-9, 2006.

SHELDON, R. D. *et al.* Gestational exercise protects adult male offspring from high-fat diet-induced hepatic steatosis. **Journal of hepatology**, Copenhagen, v. 64, n. 1, p. 171-178, jan. 2016.

STANFORD, K. I. *et al.* Exercise before and during pregnancy prevents the deleterious effects of maternal high-fat feeding on metabolic health of male offspring. **Diabetes**, New York, v. 64, n. 2, p. 427-433, feb. 2015.

STANTON, R. C. 2012. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. **IUBMB life**, London, v. 64, n. 5, p. 362-369, may. 2012.

STINCONE, A. *et al.* The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, London, v. 90, n. 3, p. 927-963, aug. 2015.

TIRAPEGUI, J. 2003. Atividade física e obesidade. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 467-467, oct-dec. 2003.

TREFTS, E., GANNON, M., WASSERMAN, D. H. The liver. **Current Biology**, London, v. 27, n. 21, p. 1147-1151, nov. 2017.

VERNON, G.; BARANOVA, A., YOUNOSSI, Z. M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 274-285, aug. 2011.

WHITE, Z. *et al.* Voluntary resistance wheel exercise from mid-life prevents sarcopenia and increases markers of mitochondrial function and autophagy in muscles of old male and female C57BL/6J mice. **Skeletal muscle**, London, v. 6, n. 1, p. 45, 2016.

YKI-JÄRVINEN, A. Nutritional modulation of non-alcoholic fatty liver disease and insuline resistance. **Nutrients**, Basel, v. 5, n. 11, p. 9127-9138, nov. 2015.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biotecnologia

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-910 / Recife - PE - Brasil
Telefone: (55 81) 2124 8840 / 2124 8051
Fax: (55 81) 2124 8250
www.cdb.ufpe.br

Recife, 01 de setembro de 2017.

Ofício nº 88/17

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Mariana Pinheiro Fernandes**

Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte

Centro Acadêmico de Vitória

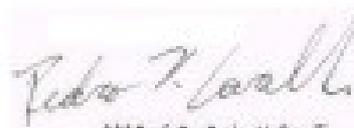
Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.017125/2017-47

Certificamos que a proposta intitulada “Efeito da atividade física voluntária materna sobre o metabolismo e a bioenergética mitocondrial no fígado de filhotes de ratos submetidos a uma dieta ‘ocidentalizada’ pós-desmame: estudo de marcadores epigenéticos de enzimas envolvidas no ciclo glicose-ácido graxo”, registrada com o nº 23076.017125/2017-47, sob a responsabilidade de Prof.ª Mariana Pinheiro Fernandes - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 30/08/2017.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2017 a 01/03/2020
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogênicos Wistar
Nº de animais	64
Peso/idade	220-260g / 85-95 dias
Sexo	Machos (52) e fêmeas (12)
Origem	Botário do CAV-UFPE

Atenciosamente,


 Prof. Dr. Pedro V. Carelli
 Presidente da CEUA / CDB-UFPE
 CDB
 SARE 1801594