



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro Acadêmico da Vitória

**Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica**

GIZELE SANTIAGO DE MOURA SILVA

**Consumo alimentar e perfil bioquímico de ratas alimentadas com dieta obesogênica materna e os efeitos do treinamento físico moderado sobre o balanço oxidativo hepático da prole**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2021



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro Acadêmico da Vitória

**Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica**

**GIZELE SANTIAGO DE MOURA SILVA**

**Consumo alimentar e perfil bioquímico de ratas alimentadas com dieta obesogênica materna e os efeitos do treinamento físico moderado sobre o balanço oxidativo hepático da prole**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico da Vitória, como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica.

**Orientadora:** Mariana Pinheiro Fernandes

**Co-orientadores:** Cláudia Jacques Lagranha e

Diogo Antonio Alves de Vasconcelos

Vitória de Santo Antão

2021

Catálogo na Fonte  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.  
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB4/2018

S586c Silva, Gizele Santiago de Moura.  
Consumo alimentar e perfil bioquímico de ratas alimentadas com dieta obesogênica materna e os efeitos do treinamento físico moderado sobre o balanço oxidativo hepático da prole / Gizele Santiago de Moura Silva. - Vitória de Santo Antão, 2021.  
105 folhas; il.

Orientadora: Mariana Pinheiro Fernandes.  
Coorientadora: Cláudia Jacques Lagranha.  
Coorientador: Diogo Antonio Alves de Vasconcelos.  
Dissertação (Mestrado em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, 2021.  
Inclui referências, apêndice e anexo.

1. Ingestão de alimentos. 2. Estresse oxidativo. 3. Exercício físico - ratos. I. Fernandes, Mariana Pinheiro (Orientadora). II. Lagranha, Cláudia Jacques (Coorientadora). III. Vasconcelos, Diogo Antonio Alves de (Coorientador). IV. Título.

**GIZELE SANTIAGO DE MOURA SILVA**

**“Consumo alimentar e perfil bioquímico de ratas alimentadas com dieta obesogênica materna e os efeitos do treinamento físico moderado sobre o balanço oxidativo hepático da prole”.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Bases Experimentais e Clínicas da Plasticidade Fenotípica.

Aprovada em: 23/02/2021

**Participação por videoconferência**

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mariana Pinheiro Fernandes  
Universidade Federal de Pernambuco

**BANCA EXAMINADORA:**

**Participação por videoconferência**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Viviane de Oliveira Nogueira Souza  
Universidade Federal de Pernambuco

**Participação por videoconferência**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Jacques Lagranha  
Universidade Federal de Pernambuco

**Participação por videoconferência**

Prof. Dr. Glauber Rudá Feitoza Braz  
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho a minha família e ao meu marido que sempre me apoiaram, dando forças e incentivo para lutar pelos meus sonhos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que está ao meu lado em todos os momentos iluminando meus caminhos, me dando forças e sabedoria em cada situação, que com sua infinita graça e misericórdia me ajudou a finalizar mais uma etapa da minha vida.

Agradeço aos meus pais, Rosângela e José João que desde de sempre me ensinaram a lutar pelos meus sonhos, me incentivando a estudar e ser alguém na vida, e que mesmo em tempos difíceis sempre acreditaram no futuro melhor para mim. Vocês são as razões pelas quais cheguei até aqui, obrigada por tudo. Aos meus irmãos Neto, Geisiele e Gesiane, que sempre me apoiaram e torceram por mim, estando ao meu lado nos bons e maus momentos, me dando forças para continuar a alcançar meus objetivos. À minha tia Elizabete, que é como uma mãe pra mim, e que sempre torceu e acreditou no meu potencial, me ajudando e incentivando a buscar o melhor caminho. À minha sobrinha Lorena por encher minha vida com seu amor e carinho. À minha cunhada Nataline e aos meus cunhados Renã e Allifer por todo apoio e torcida. Obrigada a todos vocês que Deus me deu como família, e que são tudo pra mim. Amo vocês.

Ao meu marido Romeu, por todo amor, carinho, companherismo e incentivo, por sempre está comigo em todos os momentos, pelo cuidado e pela força que me deu durante todos esses anos. Amo muito você.

Também agradeço a minha sogra Kátia pelas orações, incentivo e palavras de apoio durante esse processo, e ao meu sogro por torcer por mim.

Minha orientadora Mariana Fernandes, que é um exemplo de profissional e pessoa, obrigada por ter me dado tantas oportunidades durante minha trajetória acadêmica, pelo esforço, paciência, força, ensinamentos, e confiança durante esse mestrado. Você é uma orientadora incrível, agradeço por tudo.

Agradeço aos meus co-orientadores Cláudia Lagranha e Diogo Vasconcelos por sempre estarem dispostos a ajudar, pelo apoio, amizade e por todo conhecimento passado.

Agradeço a todos aos meus amigos que estiveram ao meu lado durante essa trajetória, especialmente a Welington, Letícia, Talitta, Ramon, Winglinson e Deisiane, que me ajudaram em todos os experimentos, onde passamos por momentos difíceis juntos, que mesmo em plena pandemia continuaram comigo durante as noites exaustivas de treinamento. Muito obrigada a todos, sem vocês eu não teria conseguido chegar até o fim, agradeço por todas as risadas e conversas descontraídas e também por todo apoio emocional que me deram neste período tão difícil. Todos vocês são muito especiais e podem contar comigo sempre.

Agradeço aos meus colegas que fizeram ou fazem parte do Laboratório de Bioquímica e Bioquímica Geral, Molecular e do Exercício (Anderson, Cássia, Nilson, Dani, Flávia, Luciana, Rudá, Allifer, Aiany, Diorginis e Cristiane) muito obrigado pelo apoio, incentivo, ajuda nos experimentos, conhecimentos trocados, e pela amizade que construímos durante todos esses anos. Tenho orgulho de fazer parte da família LABMEX.

Agradeço a minha turma de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, por tudo que passamos e pelos conhecimentos adquiridos juntos. Obrigada a todos os professores que fizeram parte desse mestrado, ensinado e passando os conhecimentos necessários para essa formação.

Obrigada a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha trajetória nesse mestrado, e me ajudaram a conquistar esse sonho. Que Deus abençoe a todos.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Adenosina difosfato
ANT-1	Translocadores de adenina nucleotídeo-1
ST	Aspartato Transaminase
ALT	Alanina Transaminase
ATP	Adenosina trifosfato
BSA	Albumina de soro bovina
CaHPO <sub>4</sub>	Fosfato bicálcico
C	Controle
CAT	Catalase
CCCP	Cianeto de carbonila m-clorofenil hidrazona
CDNB	2,4-Dinitroclorobenzeno
CETP	Proteína de transferência de colesterol esterificado
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
CHO	Carboidratos
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CNT	Controle Não Treinado
CT	Controle treinado
CTE	Cadeia transportadora de elétrons
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DNPH	2,4-Dinitrofenil-hidrazina
DNP-SG	Dinitro fenil S glutationa
DNP-SG	2,4-Dinitrofenil-S-glutationa
DOHaD	Origem desenvolvimentista da saúde e doença
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPM	Erro padrão da média
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EGTA	Etileno glico-bis(b-aminoetil éter)-N,N,N',N'-ácido tetraacético
FADH <sub>2</sub>	Flavina-adenina dinucleotideo (estado reduzido)
FeSO <sub>4</sub>	Sulfato ferroso
Fe <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Óxido ferroso

GPX	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
GSSG	Glutationa oxidada
GSH	Glutationa reduzida
GST	Glutationa-S-transferase
G6PDH	Glicose-6-fosfato-desidrogenase
HDL	Lipoproteína de alta densidade
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
H <sub>2</sub> O	Água
KCl	Cloreto de potássio
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Fosfato dipotássico
Lip	Lipídios
LC	Leite condensado
L-CAT	Lecitina colesterol aciltransferase
MDA	Malondealdeído
MgCl <sub>2</sub>	Cloreto de magnésio
MgO	Óxido de magnésio
MgSO <sub>4</sub>	Sulfato de magnésio
mM	Milimolar
NaCl	Cloreto de sódio
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo (estado reduzido)
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (estado reduzido)
NADP <sup>+</sup>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (estado oxidado)
NaOH	Hidróxido de sódio
OB	Obesogênica
ONT	Obesogênico Não Treinado
OPT	O-Phthallialdeído
OT	Obesogênico Treinado
O <sub>2</sub> •	Ânion superóxido
PGC1-α	Co-ativador 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissomo
pH	Potencial Hidrogeniônico
Pi	Fosfato inorgânico
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonil
Ptna	Proteína

REDOX	Redução-oxidação
RPM	rotações por minuto
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TAA	Tecido adiposo abdominal
TAV	Tecido adiposo visceral
TCA	Ácido tricloroacético
Tfam	Fator de transcrição mitocondrial A
TFM	Treinamento físico moderado
TTG	Teste de tolerância a glicose
$\Delta\Psi_m$	Potencial elétrico de membrana mitocondrial

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Figuras da apresentação:

Figura 1. Representação da cadeia transportadora de elétrons.....	27
Figura 2. Representação do sistema antioxidante enzimático e não enzimático.....	29
Figura 3. Modelo experimental.....	37
Figura 4. Esteira ergométrica Inbramed, modelo para ratos 9015.5.X, utilizada no treinamento dos animais.....	38
Figura 5. Avaliação do consumo de ração das mães durante a gestação.....	44
Figura 6. Avaliação do consumo de ração hiperlipídica e leite condensado durante a gestação de ratas do grupo obesogênico.....	44
Figura 7. Avaliação do consumo de ração das mães durante a lactação.....	45
Figura 8. Avaliação do consumo de ração hiperlipídica e leite condensado durante a lactação de ratas do grupo obesogênico.....	45
Figura 9. Avaliação do peso corporal durante a gestação de mães alimentadas com dieta obesogênica.....	47
Figura 10. Avaliação do peso corporal durante a lactação de mães alimentadas com dieta obesogênica.....	48
Figura 11. Avaliação do peso do tecido adiposo abdominal de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	48
Figura 12. Avaliação do peso do tecido adiposo visceral de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	49
Figura 13. Avaliação dos níveis séricos de glicose de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação .....	50
Figura 14. Avaliação dos níveis de colesterol total de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	50

Figura 15. Avaliação dos níveis de HDL de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	51
Figura 16. Avaliação do teste de tolerância à glicose de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	51
Figura 17. Avaliação do peso ao nascer da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	52
Figura 18. Avaliação do peso ao desmame da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	53
Figura 19. Avaliação do peso corporal aos 60 dias de vida da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	53
Figura 20. Avaliação do peso do fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	55
Figura 21. Avaliação do peso do tecido adiposo abdominal da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	56
Figura 22. Avaliação do peso do tecido adiposo visceral da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	56
Figura 23. Avaliação dos níveis de glicose da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	57
Figura 24. Avaliação dos níveis de colesterol total da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	57
Figura 25. Avaliação dos níveis de Substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	58
Figura 26. Avaliação da atividade enzimática da Superóxido Dismutase no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	58
Figura 27. Avaliação da atividade enzimática da Catalase no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	59

Figura 28. Avaliação da atividade enzimática da Glutathione-S-Transferase no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	59
Figura 29. Avaliação dos níveis de Grupamentos Sulfidrilas no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	60
Figura 30. Avaliação dos níveis de Glutathione Reduzida no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	60
Figura 31. Avaliação dos níveis de Glutathione Oxidada no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	61
Figura 32. Avaliação do Estado Redox (GSH/GSSG) no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....	61

**Figuras do artigo:**

Figure 1. Body weight of offspring.....	101
Figure 2. Tissue weight and biochemical profile of the offspring.....	102
Figure 3. Evaluation of the oxidative stress biomarkers and enzymatic antioxidant activity.....	103
Figure 4. Evaluation of non-enzymatic antioxidant activity.....	104

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição quanto aos ingredientes utilizados nas dietas experimentais.....	36
Tabela 2. Protocolo de 4 semanas de treinamento físico de acordo com a velocidade e duração das sessões.....	38
Tabela 3. Consumo alimentar em quilocalorias (kcal) a cada semana de gestação de mães do grupo Controle e do grupo Obesogênico.....	46
Tabela 4. Consumo alimentar em quilocalorias (kcal) a cada semana de lactação de mães do grupo Controle e do grupo Obesogênico.....	46
Tabela 5. Consumo alimentar durante o treinamento físico em quilocalorias (kcal) por semana e por macronutrientes da dieta.....	54

### **Tabela do artigo:**

Table 1. Food consumption during physical training in kilocalories (kcal) per week and by dietary macronutrients.....	100
---	-----

### **Tabela complementar do artigo:**

Table 1. Protocol of 4 weeks of physical training according to the speed and duration of the sessions.....	105
--	-----

## RESUMO

O consumo de dieta obesogênica induz obesidade gestacional e estresse metabólico hepático na prole, mas o treinamento físico pode atenuar esses efeitos. O objetivo do trabalho foi avaliar o consumo alimentar e perfil bioquímico de ratas alimentadas com dieta obesogênica materna (DOM) e os efeitos do treinamento físico moderado (TFM) no balanço oxidativo hepático da prole. Ratas *Wistar* prenhas do grupo controle (n=5), receberam dieta de biotério e do grupo obesogênico (OB) (n=5), dieta obesogênica (Dieta hiperlipídica (DH) mais leite condensado (LC)), na gestação e lactação. Ao desmame, os machos foram subdivididos nos grupos: Controle Não Treinado (CNT) (n=8), Controle Treinado (CT) (n=8), Obesogênico Não Treinado (ONT) (n=8) e Obesogênico Treinado (OT) (n=8). Aos 30 dias de vida, houve treinamento físico em esteira (60 min/dia, 5 dias/semana, 4 semanas e a 50% da capacidade máxima) e eutanásia aos 60 dias de vida. Foram avaliados nas mães e na prole, a ingestão alimentar, o peso corporal e do tecido adiposo abdominal (AAT) e visceral (VAT), os níveis séricos de glicose e o colesterol total. Nas mães foram avaliados os níveis de HDL e teste oral de tolerância à glicose. Na prole, foram avaliados o peso do fígado, peroxidação lipídica (TBARS), atividade da superóxido dismutase-SOD, Catalase-CAT, glutatona-S-transferase-GST, níveis de sulfidrilas e estado REDOX (GSH/GSSG). Foi utilizado teste t de Student ou ANOVA Two-way, e os resultados demonstrados como média  $\pm$  EPM considerando  $p < 0,05$ . O grupo OB consumiu mais LC do que DH (86,76%,  $p=0,0306$ ) na primeira semana de gestação. O grupo OB apresentou peso maior na gestação (46,50%,  $p=0,0019$ ) e menor na lactação (42,05%,  $p=0,0194$ ), peso maior do TAA (55,89%,  $p=0,0032$ ) e do TAV (39,37%,  $p=0,0106$ ), maiores níveis de glicose (14,85%,  $p=0,0076$ ), menores níveis de HDL (6,96%,  $p=0,0006$ ) e menor tolerância à glicose aos 15 min (34,65%,  $p=0,0087$ ), 60 min (24,32%,  $p=0,0491$ ) e 120 min (12,42%,  $p=0,0158$ ). A prole OB apresentou maior peso ao nascer (10,08%,  $p=0,0011$ ) e ao desmame (18,73%,  $p < 0,0001$ ). O peso aos 60 dias de vida (OT: 13,94%,  $p=0,0020$ ; CT: 12,81%,  $p=0,0094$ ), do fígado (OT: 8,52%,  $p=0,0336$ ; CT: 9,70%,  $p=0,0109$ ) e do TAA (OT: 9,70%,  $p=0,0058$ ; CT: 36,45%,  $p=0,0207$ ) foi menor nos grupos treinados. O peso do TAV diminuiu no grupo OT (16,97%,  $p=0,0169$ ). Os níveis de TBARS diminuiram nos grupos treinados (OT: 19,21%,  $p=0,0409$ ; CT: 23,86%,  $p=0,0049$ ). A atividade da SOD (38,25%,  $p=0,0042$ ) e GST (16,20%  $p=0,0472$ ) aumentou no grupo OT comparado com ONT. A atividade da CAT aumentou nos grupos OT (21,02%,  $p=0,0300$ ) e CT (24,64%,  $p=0,0240$ ). Os níveis de sulfidrilas diminuiram (43,94%,  $p < 0,0001$ ) e os de GSSG aumentaram (62,34%,  $p < 0,0001$ ) no grupo OT. A DOM induziu

aumento de peso, alterações bioquímicas nas mães, e desbalanço oxidativo hepático da prole, mas TFM reverteu muitos desses efeitos.

**Palavras-chaves:** enzimas antioxidantes; fígado; dieta obesogênica materna; estresse oxidativo; treinamento físico.

## ABSTRACT

The consumption of an obesogenic diet induces gestational obesity and hepatic metabolic stress in the offspring, but physical training can mitigate these effects. objective of this work was to evaluate the food consumption and biochemical profile of female rats fed with maternal obesogenic diet (MOD) and the effects of moderate physical training (MPT) on the offspring's hepatic oxidative balance. Pregnant Wistar rats from the control group received a diet from animal vivarium (n=5) and the obesogenic group (OB), obesogenic diet (hyperlipid diet (HD) plus condensed milk (CM)) n=5, during pregnancy and lactation. At weaning, males were subdivided into groups: Untrained Control (UC) (n=8), Trained Control (TC) (n=8), Untrained Obesogenic (UO) (n=8), and Trained Obesogenic (TO) (n=8). At 30 days of life, there was physical training on a treadmill (60 min/day, 5 days/week, 4 weeks, and at 50% of maximum capacity) and euthanasia at 60 days of life. Were assessed in the mothers and offspring, food intake, body weight and abdominal adipose tissue weight (AAT) and visceral tissue (VAT), serum levels of glucose, and total cholesterol. On the mothers were assessed HDL levels and the oral glucose tolerance test. In offspring, were assessed liver weight, lipid peroxidation (TBARS), superoxide dismutase-SOD, Catalase-CAT, glutathione-S-transferase-GST activity, sulfhydryl levels, and REDOX status (GSH/GSSG). Was used to Student's t-test or Two-factor ANOVA, and the results demonstrated as mean  $\pm$  SEM considering  $p < 0.05$ . The OB group consumed more CM than HDL (86.76%,  $p=0.0306$ ) in the first week of pregnancy. The OB group had higher weight during pregnancy (46.50%,  $p=0.0019$ ) and lower weight during lactation (42.05%,  $p=0.0194$ ), higher weight than AAT (55.89%,  $p=0.0032$ ) and VAT (39.37%,  $p=0.0106$ ), higher glucose levels (14.85%,  $p=0.0076$ ), lower HDL levels (6.96%,  $p=0.0006$ ) and lower glucose tolerance at 15 min (34.65%,  $p=0.0087$ ), 60 min (24.32%,  $p=0.0491$ ) and 120 min (12.42%,  $p=0.0158$ ). OB offspring had higher birth weight (10.08%,  $p=0.0011$ ) and at weaning (18.73%,  $p<0.0001$ ). The weight at 60 days of life (TO: 13.94%,  $p=0.0020$ ; TC: 12.81%,  $p=0.0094$ ), of the liver (TO: 8.52%,  $p=0.0336$ ; TC: 9.70%,  $p=0.0109$ ) and AAT (TO: 9.70%,  $p=0.0058$ ; TC: 36.45%,  $p=0.0207$ ) was lower in the trained groups. The weight of VAT decreased in the TO group (16.97%,  $p=0.0169$ ). TBARS levels decreased in the trained groups (TO: 19.21%,  $p=0.0409$ ; TC: 23.86%,  $p=0.0049$ ). The activity of SOD (38.25%,  $p=0.0042$ ) and GST (16.20%  $p=0.0472$ ) increased in the TO group compared to UO. CAT activity increased in the TO (21.02%,  $p=0.0300$ ) and TC (24.64%,  $p=0.0240$ ) groups. Sulfhydryl levels decreased (43.94%,  $p<0.0001$ ), and GSSG levels increased (62.34%,  $p<0.0001$ ) in the TO group. MOD

induced weight gain, biochemical changes in the dams, and hepatic oxidative imbalance in the offspring, but TFM reversed many of these effects.

**Keywords:** antioxidant enzymes; liver; maternal obesogenic diet; oxidative stress; physical training.

## SUMÁRIO

1 DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA .....	20
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1 Períodos críticos do desenvolvimento e dieta obesogênica .....	23
2.2 Metabolismo hepático e sistemas antioxidantes .....	26
2.3 Treinamento físico de intensidade moderada e metabolismo oxidativo hepático.....	30
3 HIPÓTESE .....	33
4 OBJETIVOS .....	34
4.1 Objetivo geral.....	34
4.2 Objetivos específicos .....	34
5 METODOLOGIA .....	35
5.1 Animais e Dieta.....	35
5.2 Protocolo de treinamento físico .....	37
5.3 Consumo alimentar das mães e da prole.....	38
5.4 Peso corporal das mães e da prole.....	39
5.5 Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG) nas mães .....	39
5.6 Coleta do sangue, do tecido hepático e do tecido adiposo abdominal e visceral.....	39
5.7 Avaliação da Glicemia, Colesterol Total e HDL das mães e da prole .....	39
5.8 Preparo do homogeneizado do tecido hepático para utilização nas técnicas bioquímicas.....	40
5.9 Dosagem de proteína.....	40
5.10 Níveis de peroxidação lipídica pela metodologia da Substância Reativa a Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) .....	40
5.11 Avaliação da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD).....	41
5.12 Avaliação da atividade da enzima Catalase (CAT).....	41
5.13 Avaliação da atividade da enzima Glutationa-S-Transferase (GST) .....	41
5.14 Avaliação dos níveis de sulfidrilas.....	42

5.15 Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e estado REDOX celular (razão GSH/GSSG) .....	42
5.16 Análise estatística.....	42
6 RESULTADOS.....	43
6.1 Consumo alimentar durante a gestação e a lactação .....	43
6.2 Delta peso corporal durante a gestação e lactação e peso dos tecidos adiposos abdominal (TAA) e visceral (TAV) das mães .....	47
6.3 Perfil bioquímico e teste oral de tolerância à glicose (TOTG) das mães.....	49
6.4 Peso corporal da prole ao nascer, ao desmame e aos 60 dias de vida e consumo alimentar durante o programa de treinamento físico.....	51
6.5 Peso do fígado e do tecido adiposo abdominal e visceral, e perfil bioquímico da prole..	55
6.6 Biomarcador de estresse oxidativo e atividade antioxidante enzimática no fígado da prole .....	57
6.7 Atividade antioxidante não enzimática no fígado da prole .....	59
7 DISCUSSÃO.....	62
8 CONCLUSÃO .....	68
REFERÊNCIAS .....	69
ANEXO A – PARACER DO COMITÊ DE ÉTICA .....	80
APÊNDICE A - ARTIGO.....	81

## 1 DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA

De acordo com a hipótese da Origem desenvolvimentista da saúde e doença (DOHaD), estímulos ou insultos perinatais podem alterar de forma permanente a estrutura e funções dos sistemas fisiológicos da prole e aumentar os riscos a doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) na vida adulta (BARKER, 2007). A plasticidade fenotípica corresponde a essas mudanças do fenótipo em resposta às alterações do ambiente durante períodos críticos do desenvolvimento, repercutindo na idade adulta (GLUCKMAN *et al.*, 2005). Esses processos estão associados às modificações epigenéticas que modulam a expressão de genes, sem modificar a sequência de DNA (BURDGE; LILLYCROP, 2010). A nutrição materna é um dos principais fatores envolvidos nesses mecanismos e tanto a subnutrição como a supernutrição na gestação e lactação podem estar relacionadas ao desenvolvimento de doenças metabólicas na prole adulta (VIEAU, 2011). Evidências já demonstraram que o excesso de nutrientes maternos pode resultar nos filhos, aumento de peso ao nascer, obesidade e alterações no metabolismo (KIRK *et al.*, 2009; LOCHE *et al.*, 2018).

As dietas obesogênicas estão sendo cada vez mais utilizadas em estudos com animais por serem semelhantes às dietas consumidas pelos humanos ocidentais (PANCHAL *et al.*, 2011; WONG *et al.*, 2018). Estudos experimentais com camundongos utilizando dieta obesogênica materna, altamente palatável e contendo alto teor de açúcar e gorduras saturadas, observaram que os filhotes apresentaram hiperfagia, resistência à insulina e hipertensão na idade adulta (SAMUELSSON *et al.*, 2008 ; NIVOIT *et al.*, 2009 ). Foi demonstrado também que a dieta obesogênica na gestação e lactação em camundongos, aumentou o conteúdo lipídico e o tamanho dos adipócitos aos 60 dias de vida, além do desenvolver obesidade, intolerância á glicose, e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) na prole, aos 90 dias de vida (SAMUELSSON, *et al.*, 2008; OBEN *et al.*, 2010; FARIA *et al.*, 2017). Sabe-se que o fígado é vulnerável a alterações perinatais e o consumo de dietas ricas em gorduras e carboidratos nos períodos iniciais da vida aumentam a suscetibilidade da prole a doenças hepáticas (HARRIS *et al.*, 2016).

O fígado é um órgão essencial no metabolismo de carboidatos, lipídios e proteínas e cerca de 80% da sua massa é composta por hepatócitos, que são células ricas em mitocôndrias (RUI, 2014). Várias doenças no fígado estão relacionadas com defeitos mitocondriais e desequilíbrios oxidativos, como por exemplo, a esteatose hepática e a DHGNA (ESPOSTI *et*

*al.*, 2012; PERALTA *et al.*, 2015). As mitocôndrias são organelas intracelulares responsáveis pela produção de energia (ATP) através da fosforilação oxidativa e consequentemente, uma das principais fontes de formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ESPOSTI *et al.*, 2012). O excesso de EROs pode levar a peroxidação lipídica, ruptura de DNA, oxidação em moléculas de membranas e lesões teciduais (LI *et al.*, 2015).

Estudos têm demonstrado que o consumo de alimentos obesogênicos aumenta a produção de EROs, e está associado a um quadro de estresse oxidativo e disfunção mitocondrial (SINGH *et al.*, 2016; KOO e KANG, 2019). Estudos experimentais já observaram que ratos alimentados durante 8 semanas com dieta obesogênica apresentaram aumento dos níveis de peroxidação lipídica e diminuíram a atividade da catalase, superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPX) no tecido hepático causando estresse oxidativo (ULLA *et al.*, 2017; MAMUN *et al.*, 2019). O consumo de dieta hiperlipídica em ratas durante a gestação e lactação também ocasionou diminuiu a atividade da SOD e da catalase no fígado da prole de ratos machos e fêmeas com 180 dias de vida, além de diminuir os níveis de tióis totais e aumentar a oxidação de proteínas nos ratos machos (MIRANDA *et al.*, 2018). Em camundongos aos 60 dias de vida, provenientes de mães alimentadas com dieta obesogênica, houve aumento de marcadores de danos oxidativos, redução dos níveis da enzima GPX, além de aumento na atividade dos complexos I e II da cadeia transportadora de elétrons e redução dos níveis de citocromo c, levando à disfunção mitocondrial no fígado (ALFARADHI *et al.*, 2014).

A literatura tem mostrado que o treinamento físico aeróbico de intensidade moderada apresenta efeitos benéficos para a redução de gordura hepática (KEATING *et al.*, 2015), melhorando o estado REDOX das células e tecidos e diminuindo o estresse oxidativo em ratos adultos (SCHEFFER *et al.*, 2012; KOO e KANG, 2019). Além disso, o mesmo tipo de exercício foi capaz de reduzir a gordura corporal, melhorar a capacidade antioxidante hepática e favorecer a oxidação de gordura no fígado (GIBALA, 2015). Um estudo com ratos aos 60 dias de vida, alimentados com dieta rica em gordura, demonstrou que o treinamento aeróbico a 60% da capacidade máxima durante 8 semanas, diminuiu o estresse oxidativo hepático induzido pela dieta, reduziu os níveis de peroxidação lipídica e oxidação de proteínas, e aumentou a atividade da catalase (LIMA *et al.*, 2018). Assim, o treinamento físico moderado parece ser uma forte estratégia capaz de melhorar as funções hepáticas e o estado REDOX intracelular.

Tendo em vista que a dieta obesogênica materna predispõem o desenvolvimento de doenças metabólicas, possíveis intervenções devem ser propostas a fim de minimizar efeitos adversos na saúde das mães e da prole. O treinamento físico de intensidade moderada tem se mostrado como uma importante ferramenta terapêutica não farmacológica na prevenção de várias disfunções e desordens metabólicas. Portanto, estudos que avaliem o consumo alimentar e perfil bioquímico de ratas alimentadas com dieta obesogênica materna, e os efeitos do treinamento físico no balanço oxidativo hepático da prole de ratos, são importantes para a compreensão da patogênese e prevenção de doenças crônico-metabólicas.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Períodos críticos do desenvolvimento e dieta obesogênica

A humanidade passa por períodos de mudanças nutricionais de forma paralela ao desenvolvimento econômico mundial (BENTO *et al.*, 2018). O conceito de transição nutricional integra o processo de alterações no padrão de nutrição e consumo, juntamente com os perfis econômicos, sociais, demográficos e epidemiológicos (POPKIN, 2006). Atrelado a esse processo de variação nutricional está a transição epidemiológica, onde as taxas de mortalidade por doenças infecciosas/parasitárias diminuíram, elevando os índices de DCNT e obesidade (ARAUJO, 2012). Países em desenvolvimento estão aumentando de forma rápida a prevalência de supernutrição, mesmo que a desnutrição ainda seja um problema grave que continua (POPKIN *et al.*, 2012). No Brasil, cerca de 11,8% da população era obesa em 2006, esse número aumentou para 20,3% em 2019, tendo um crescimento significativo de sobrepeso/obesidade entre as mulheres na idade adulta e na fase reprodutiva (VIGITEL, 2019). Vários fatores estão relacionadas com as causas de excesso de peso na vida adulta, como dietas altamente energéticas, inatividade física e fatores genéticos. No entanto, a nutrição na fase gestacional realiza uma atribuição relevante na relação de sobrepeso/obesidade e DCNT (YANG; HUFFMAN 2012).

Os períodos iniciais da vida desempenham uma importante função no desenvolvimento fisiológico e metabólico do organismo (AIKEN *et al.*, 2016). A exposição de estímulos ou insultos ambientais específicos, durante as primeiras fases da vida, podem ocasionar alterações permanentes na fisiologia do organismo humano (GLUCKMAN; HANSON, 2004; GLUCKMAN *et al.*, 2011). De acordo com o conceito de DOHaD, esses estímulos e insultos podem interromper o crescimento e desenvolvimento correto do feto, e como resultado, um genótipo pode originar diferentes fenótipos, como resposta as distintas condições ambientais intra-uterina (LANGLEY-EVANS; MCMULLEN 2010). Estudos epidemiológicos e experimentais já observaram que alterações no ambiente durante a gestação e lactação, aumentam o risco de desenvolver distúrbios metabólicos na prole em idade adulta (HOWIE *et al.*, 2009; BRETON *et al.*, 2013; GUARDA *et al.*, 2014). Esse evento é conhecido como "programação metabólica" e está associado à alterações epigenéticas, que corresponde a mudanças na expressão de genes sem que ocorra alteração na sequência nucleotídica, como por exemplo, a metilação de DNA e a acetilação de histonas (BURDGE *et al.*, 2007; ALVARADO-

CRUZ *et al.*, 2018). Sendo assim, a nutrição no período de gestação tem sido considerada como um dos fatores ambientais que mais influenciam os mecanismos epigenéticos no desenvolvimento fetal (JAMES *et al.*, 2018).

Pesquisas relacionadas aos efeitos da nutrição materna na metilação do DNA observaram que a subnutrição ou supernutrição durante a gravidez, ou o consumo de diferentes quantidades de proteínas, gorduras e carboidratos pode provocar alterações epigenéticas e fenotípicas nos filhos (LILLYCROP, *et al.*, 2012; JIMÉNEZ-CHILLARÓN, 2012). Já foi demonstrado em estudos com roedores, que a prole de mães alimentadas com dieta rica em gordura apresentou expressão gênica alterada, metilação do DNA e inibição do ciclo celular nas células hepáticas (DUDLEY *et al.* 2011; KELEHER *et al.*, 2018). Em períodos de alterações nutricionais, o feto se relaciona dinamicamente com o meio a fim de obter vantagens de sobrevivência para o futuro. O termo "plasticidade fenotípica" refere-se a essa capacidade de mudanças do fenótipo em resposta às alterações ambientais durante períodos críticos do desenvolvimento e às repercussões na vida adulta (BATESON *et al.*, 2004; GLUCKMAN *et al.*, 2005).

A literatura demonstra que um alto consumo calórico perinatal pode aumentar a predisposição dos filhos à doenças metabólicas ao longo da vida, sugerindo que um desequilíbrio precoce na nutrição, por alimentação insuficiente ou excessiva, pode aumentar as chances de futura síndrome metabólica (METGES *et al.*, 2009). No entanto, dietas ricas em gorduras saturadas e com alto teor de carboidratos têm sido muito consumidas no mundo ocidental, inclusive durante a gestação (MUSIAL *et al.*, 2017). Acredita-se que concentrações plasmáticas elevadas de glicose e ácidos graxos livres durante o período gestacional podem levar a mudanças no controle do apetite, função neuroendócrina ou metabolismo energético no desenvolvimento fetal resultando em obesidade em fases mais tardias da vida (LAPHAM, *et al.*, 2012). Tem sido investigado cada vez mais a combinação de dietas ricas em gorduras saturadas e carboidratos durante a gestação e os efeitos do excesso desses macronutrientes na saúde da prole (KERELIUK *et al.*, 2017).

Em estudos experimentais com ratos, o consumo nutricional materno por dietas hipercalóricas que simulam dietas ocidentalizadas, como dieta hiperlipídica, de cafeteria ou rica em carboidratos, modificam o metabolismo da prole podendo levar a resistência à insulina, diabetes *mellitus* tipo 2 e doenças cardiovasculares (TAYLOR *et al.*, 2014; ZAMBRANO *et*

*al.*, 2016; OHTA *et al.*, 2017). As dietas obesogênicas, estão dentro do contexto de dieta ocidentalizada, e são caracterizadas pela combinação de alto teor de carboidratos e alto teor em gorduras saturadas (PANCHAL *et al.*, 2011). Estudos experimentais com roedores têm utilizado essa dieta com objetivo de induzir a obesidade, e por ser mais semelhantes com a dieta consumida pelos humanos ocidentais, estando relacionada ao desenvolvimento da síndrome metabólica (PANCHAL *et al.*, 2011; WONG *et al.*, 2018).

Uma pesquisa realizada com camundongos observou que a dieta materna contendo 28% de gordura e 55% de carboidratos simples, durante a gestação e lactação, presdispõe doenças cardiovasculares, disfunção endotelial e hipertensão na prole aos 90 dias de vida (SAMUELSSON, *et al.*, 2008). Ratos machos e fêmeas descendentes de mães alimentadas com dieta obesogênica na gestação e lactação, tiveram peso maior ao desmame e hiperfagia a partir das 5–6 semanas de vida, quando comparados aos animais descendentes de mães controle, além disso, aos 90 dias, o peso corporal permaneceu aumentado, assim como o peso do fígado, em ambos os gêneros (KIRK *et al.*, 2009). Estudos observaram que dieta com alto teor de carboidrato e gorduras saturadas ofertada a ratas durante a gestação e lactação aumentou o conteúdo lipídico do tecido adiposo e o tamanho dos adipócitos nos filhotes machos, aos 60 dias de vida (DE ALMEIDA FARIA *et al.*, 2017), além de apresentar excesso de peso, hiperfagia e resistência à insulina na prole, aos 91 dias de vida (GOMES *et al.*, 2018). Também foi observado em camundongos com 8 semanas de idade, resistência à insulina no tecido adiposo após serem submetidos a dieta obesogênica materna (FERNANDEZ-TWINN *et al.*, 2014).

Em condições onde dietas com alto teor de gordura e carboidratos são consumidas, há uma oferta excessiva de lipídios no fígado, podendo acelerar o desenvolvimento da desregulação metabólica e influenciar a disfunção mitocondrial hepática (CRESCENZO *et al.*, 2014). Aos três meses de vida, camundongos descendentes de mães que foram submetidas a dieta obesogênica durante a gestação e lactação desenvolveram DHGNA. Esse estudo também mostrou que filhotes de mães alimentadas com dieta controle, que foram amamentados por mães com dieta obesogênica, apresentaram aumento dos níveis de Aspartato Transaminase (AST) e triglicerídeos hepáticos, e desenvolveram esteatose e fibrogênese hepática (OBEN *et al.*, 2010). Além disso, Alfaradhi *et al.* (2014), demonstrou que dieta materna rica em gorduras saturadas e carboidratos em roedores resultou em acúmulo de gordura no fígado, aumento na

atividade dos complexos I e II da cadeia transportadora de elétrons e estresse oxidativo hepático (ALFARADHI *et al.*, 2014).

## 2.2 Metabolismo hepático e sistemas antioxidantes

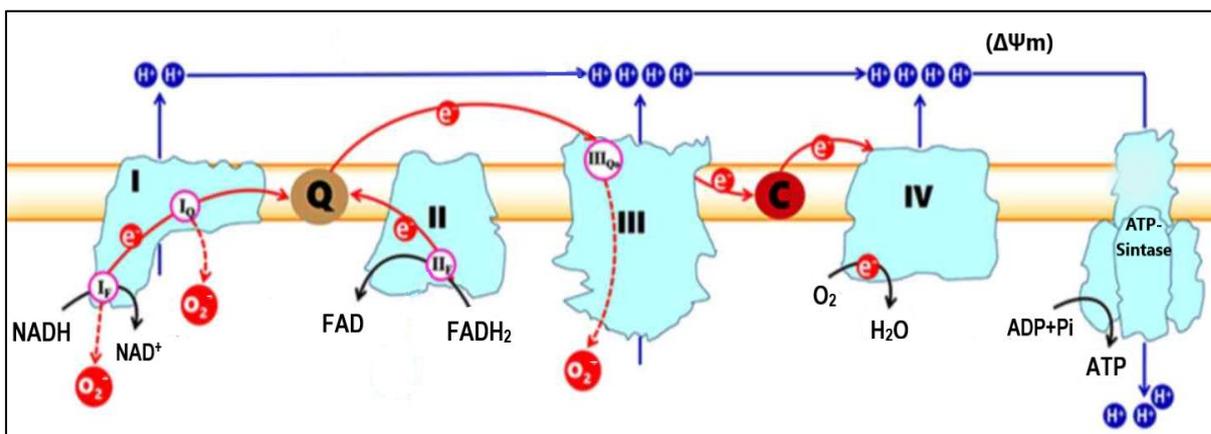
O fígado é um órgão fundamental do corpo, que desempenha a função de metabolização e armazenamento de produtos resultantes da dieta como carboidratos, lipídios e proteínas (LIU *et al.*, 2017). Ele se conecta metabolicamente a vários tecidos, incluindo músculo esquelético e tecido adiposo, sendo um alvo da sinalização de insulina e glucagon, e neutralização de substâncias tóxicas (RUI, 2014). Além disso, contribui para manter estáveis os níveis de glicose no sangue, regulando a síntese de glicogênio e a gliconeogênese nas células hepáticas (BUGIANESI *et al.*, 2005). As células do fígado, chamadas de hepatócitos, compõem 70% a 85% da massa desse órgão e são mais vulneráveis a danos celulares (MAILLOUX *et al.*, 2011). Distúrbios na capacidade dos hepatócitos em realizar as funções biológicas do fígado, podem levar ao desenvolvimento de várias doenças, como por exemplo, doença hepática colestática e gordurosa, diabetes tipo 2 e câncer (ESPOSTI *et al.*, 2012).

As funções do fígado dependem de energia, que é gerada principalmente pela mitocôndria, esta organela é indispensável no fornecimento de adenosina trifosfato (ATP), molécula energética essencial para a maioria dos processos biológicos (AUGER *et al.*, 2015). Devido à sua alta atividade metabólica, as células do tecido hepático são ricas em mitocôndrias, e mudanças na função mitocondrial exercem um efeito maior da atividade metabólica do fígado (CRESCENZO *et al.*, 2015). Assim, desordens mitocondriais tendem a provocar e agravar alterações metabólicas e doenças do fígado tais como, a resistência à insulina, o carcinoma hepatocelular, doença hepática alcoólica, e DHGNA (GALLOWAY; YOON, 2013).

As mitocôndrias contêm uma estrutura formada por duas membranas (interna e externa), além do espaço entre essas membranas e a matriz mitocondrial (CHIARATTI *et al.*, 2020). Essas organelas realizam várias funções no metabolismo energético dentro das células, dentre elas, a oxidação de substratos via  $\beta$ -oxidação, o ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de krebs) e a fosforilação oxidativa, sendo esta última a principal fonte da produção de ATP (AUGER *et al.*, 2015). A fosforilação oxidativa produz um total de 38 moléculas de ATP a partir da oxidação completa de uma molécula de glicose, através de um conjunto de quatro complexos de transportadores de elétrons (I, II, III, IV), em que a nicotinamida adenina

dinucleotídeo fosfato (NADH) ou Flavina-adenina dinucleotídeo ( $\text{FADH}_2$ ) é oxidado pelos complexos I ou II, respectivamente, resultando no fluxo de elétrons através da cadeia transportadora de elétrons (CTE), tendo o  $\text{O}_2$  comoceptor final de hidrogênio formando água no complexo IV (SHEERAN; PEPE, 2017). No entanto, os prótons são ejetados em direção ao espaço intermembranar em nível dos complexos I, III e IV, por meio da membrana mitocondrial interna criando o potencial elétrico da membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ), que é usado para direcionar os prótons de volta para a matriz via ATP-sintase enquanto consome  $\text{O}_2$  e condensa  $\text{ADP} + \text{Pi}$  para formar ATP (TEODORO *et al.*, 2018) (Figura 1). Acredita-se que os complexos I e III sejam os maiores produtores de EROs (BRAND, 2010). Dentre as principais EROs produzidas na mitocôndria destaca-se o ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), um radical livre com alto potencial reativo.

Figura 1 - Representação da cadeia transportadora de elétrons.



Complexos I, II, III e IV realizando a transferência de elétrons (indicado pelas setas vermelhas), enquanto o de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADH) e Flavina-adenina dinucleotídeo ( $\text{FADH}_2$ ) são oxidados pelos complexos I e II. As setas vermelhas tracejadas indicam a produção de ânion superóxido durante a transferência de elétrons. As setas azuis indicam a passagem de prótons para o espaço intermembranar, formando o potencial elétrico de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ), que direciona os prótons para dentro da matriz pela ATP-sintase, formando ATP pela condensação do  $\text{ADP} + \text{Pi}$ .

\*Q= ubiquinona, C= citocromo c, FAD= dinucleotídeo de flavina e adenina,  $\text{NAD}^+$ = Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina.

Fonte: Adaptado de Zhao, *et al.*, 2019.

No metabolismo energético, EROs são inevitavelmente geradas por um processo natural da vida aeróbia (KOO; KANG, 2019). Essas moléculas são quimicamente reativas e em concentrações leve/moderada realizam funções importantes para o organismo, como atividades de sinalização, crescimento e diferenciação celular, homeostase intracelular, e defesa imunológica contra patógenos (PIZZINO *et al.*, 2017; RAJENDRAN *et al.*, 2014). Quando a produção de EROs é excessiva, e a sua remoção pelas defesas antioxidantes não é eficiente

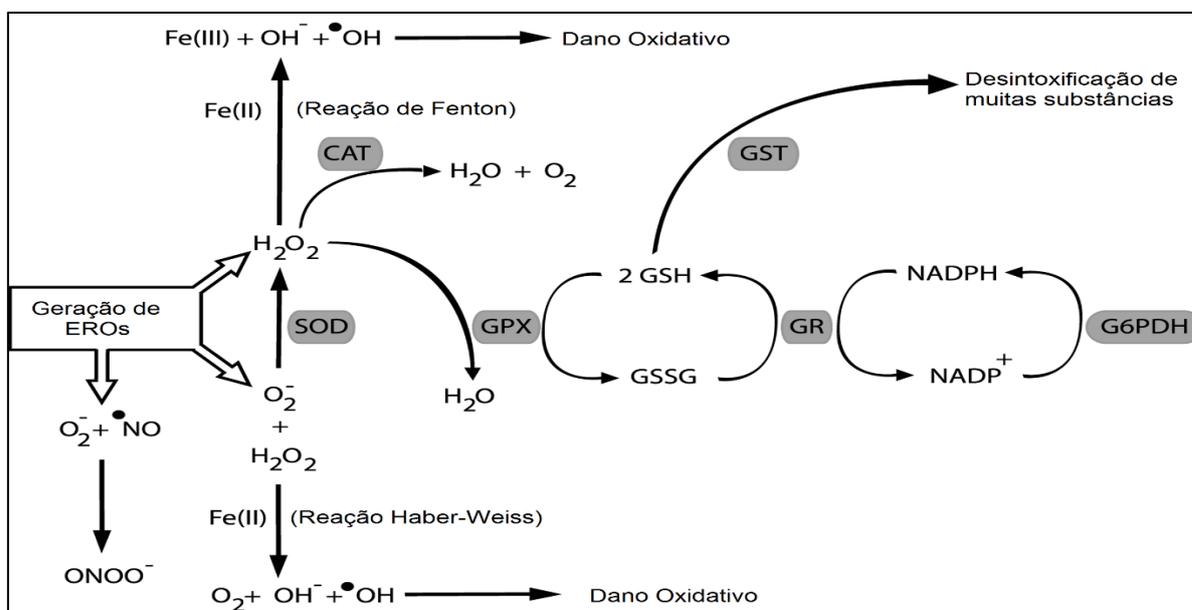
havendo o predomínio de agentes oxidantes, surge assim o quadro de estresse oxidativo (LI *et al.*, 2014). O estresse oxidativo desencadeia dano hepático induzindo alteração irreversível de lipídios, proteínas e conteúdo de DNA, além de modular as vias de regulação de transcrição de genes, expressão proteica, e apoptose celular (LI *et al.*, 2015). O estresse oxidativo pode comprometer severamente o funcionamento das células e contribuir para o desenvolvimento de doenças como diabetes, doenças cardíacas, aterosclerose, doenças hepáticas e câncer (BIRBEN *et al.*, 2012). Sendo assim, manter o equilíbrio entre os estados redutor e oxidante, conhecido como estado REDOX, é essencial para as funções fisiológicas do corpo.

Os organismos vivos contam com sistemas de defesas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, que têm a capacidade de prevenir ou retardar a oxidação de macromoléculas, reduzindo ou cessando as reações oxidantes e removendo os radicais livres (ZOUFAN *et al.*, 2018). As principais defesas antioxidantes enzimáticas, são a SOD, a catalase e a GPX (ADWAS *et al.*, 2019). A SOD é a primeira enzima que realiza a defesa contra os efeitos tóxicos dos níveis aumentados de EROs através da dismutação do  $O_2^-$  transformando-o em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), esse por sua vez pode participar da reação de Fenton e reação de Haber Weiss que gera o radical hidroxil ( $OH^\cdot$ ) que é extremamente lesivo as células (GILL; TUTEJA 2010). A catalase possui a capacidade de transformar o  $H_2O_2$  em água e oxigênio, protegendo o organismo celular contra a atividade reativa do peróxido. A enzima GPx também tem a mesma ação da catalase, em realizar a redução do peróxido de hidrogênio, mas ela depende da atividade de oxidação da glutathiona reduzida (GSH) a sua forma oxidada (GSSG) (RUSZKIEWICZ; ALBRECHT, 2015).

A GSH está no grupo das defesas antioxidantes não enzimáticas, sendo o tiol intracelular mais abundante em todos os compartimentos celulares, atuando como um cofator para outras enzimas, como por exemplo, a GPX (BIRBEN *et al.*, 2012). Além disso, suas atribuições inclui a redução de hidroperóxido e desintoxicação de xenobióticos, juntamente com ação da coenzima glutathiona-S-transferase (GST) que realiza a excreção de elementos tóxicos para fora da célula, desempenhando um papel de purificação metabólica e defesa contra EROs (FROVA, 2004; TREMBLAY *et al.*, 2010). A glutathiona redutase (GR) também faz parte das defesas antioxidantes não enzimáticas, tendo a tarefa de regenerar a glutathiona oxidada (GSSG) à sua forma reduzida (GSH), na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH). O NADPH intracelular, é gerado pela redução de  $NADP^+$  pela enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PDH), através da via das pentoses-fosfato, assim, essa enzima determina a

capacidade de tamponamento do GSH/GSSG, sendo considerada uma enzima antioxidante reguladora essencial (SIES, 1999; DICKINSON; FORMAN, 2002; AUGER *et al.*, 2015) (Figura 2).

Figura 2 - Representação do sistema antioxidante enzimático e não enzimático.



As abreviaturas SOD, CAT, GST, GR, GPx, GSH, GSSG, NADP+, NADPH e G6PDH representam, superóxido dismutase, catalase, glutathione S-transferase, glutathione redutase, glutathione peroxidase, glutathione reduzida, glutathione oxidada, nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (estado oxidado), nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (estado reduzido), e glicose-6-fosfato desidrogenase, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Hermes-Lima, 2004.

O modelo de dieta obesogênica durante 8 semanas em ratos aos 90 dias de vida, também já demonstrou aumento de peroxidação lipídica e oxidação de proteínas, tanto no plasma quanto no tecido hepático, além da redução da atividade antioxidante das enzimas, como catalase e SOD, além da diminuição da concentração de GSH no fígado, levando ao quadro de estresse oxidativo hepático (RAHMAN *et al.*, 2017). De acordo com o estudo de Alfaradhi *et al.*, 2014, a obesidade materna induzida por dieta obesogênica na gestação e lactação, aumentou os marcadores de estresse oxidativo no fígado, reduziu os níveis da enzima antioxidante GPX, além de aumentar atividade dos complexos I e II da CTE e diminuir os níveis de citocromo c na prole de roedores com 8 semanas de idade, sugerindo disfunção mitocondrial hepática (ALFARADHI *et al.*, 2014).

### 2.3 Treinamento físico de intensidade moderada e metabolismo oxidativo hepático

O exercício físico pode ser uma eficaz medida de intervenção terapêutica não farmacológica que previne e trata a obesidade e doenças relacionadas (SHEN *et al.*, 2015). Um estilo de vida ativo com exercícios moderados tem sido recomendados para a proteção de distúrbios cardiovasculares, diabetes tipo II, síndrome metabólica e doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, por exemplo (BALTACI *et al.*, 2016). A prática regular de exercício físico de forma programada é denominada “treinamento físico”. O treinamento físico é considerado como um processo organizado e sistemático de aperfeiçoamento físico, nos seus aspectos morfológicos e funcionais, relacionados com a capacidade de realização de tarefas que envolvam ações motoras (BARBANTI; TRICOLI; UGRINOWITSCH, 2004).

Evidências têm mostrado que o treinamento físico aeróbico de intensidade moderada (50% a 70% da frequência cardíaca máxima) retarda e/ou previne doenças crônicas relacionadas à obesidade (BARRETT; LIU, 2013), além de reduzir a quantidade de gordura no fígado (KEATING *et al.*, 2015). Estudos experimentais usando modelo de dieta rica em gordura observou que o treinamento aeróbico em esteira, durante 6 semanas, foi capaz de diminuir a gordura no fígado e melhorar a DHGNA, em ratos adultos (BAEK *et al.*, 2018). Em camudongos alimentados com dieta hiperlipídica houve melhora do perfil lipídico, redução do peso corporal, adiposidade visceral, resistência à insulina, e gordura do fígado, após 8 semanas de treinamento aeróbico em esteira (MARQUES *et al.*, 2010).

Durante o exercício físico, o fígado desempenha uma importante função, através da liberação de glicose e ácidos graxos na corrente sanguínea para serem metabolizados no músculo e tecidos extra-hepáticos. Além disso, os aminoácidos também são metabolizados para fornecer energia, e outras moléculas bioativas como a glicose (LIANGYOU, 2014). Associado a esses efeitos, as mitocôndrias são extremamente importantes no desempenho do exercício, devido à produção de energia aeróbica (LIMA *et al.*, 2013). Segundo Achten e Jeukendrup (2003), quando o exercício é realizado com intensidade moderada, a demanda energética predominante é a oxidação de ácidos graxos, havendo uma maior ativação da enzima lipase lipoproteica. Assim, aumenta a taxa de lipólise no tecido adiposo para manter o exercício por um período mais longo, reduzindo a massa gorda e o acúmulo de gordura no fígado (ACHTEN; JEUKENDRUP, 2003). As mitocôndrias hepáticas recebem estímulos através do exercício para

produzir ATP e assim, manter a homeostase dos processos metabólicos, além de ativar vias sistêmicas que modulam indiretamente a bioenergética, função e estrutura mitocondrial (BELEZA *et al.*, 2018; FLETCHER *et al.*, 2016). O exercício regular oferece proteção aos sistemas antioxidantes, ajudando o organismo a aumentar a atividade de defesas antioxidantes enzimáticas produzidas endogenamente (DA PALMA *et al.*, 2016; GOMES *et al.*, 2016).

O tipo, duração e intensidade do exercício físico determinam os efeitos produzidos sobre os mecanismos antioxidantes e os níveis de estresse oxidativo (TOFAS *et al.*, 2020). Exercícios de alta intensidade ou exaustivos estão relacionados ao aumento da produção de EROs e diminuição de defesas antioxidantes, tendo como resultado, os danos excessivos às macromoléculas (LI *et al.*, 2015; YAN *et al.*, 2014). Por outro lado, evidências têm demonstrado que exercícios de intensidade leve a moderada induz a atividade de enzimas antioxidantes, diminuindo os níveis de EROs e melhorando o estado REDOX intracelular (RADAK *et al.*, 2008; STEINBACHER; ECKL, 2015). Acredita-se que o exercício físico de intensidade moderada  $\geq 250$  minutos/semana melhora o quadro fisiopatológico do fígado, como por exemplo, a DHGNA, reduzindo os níveis de inflamação, estresse oxidativo e alterando o metabolismo de ácidos graxos (OH *et al.*, 2017). A prática de exercícios moderados apresenta efeitos positivos contra condições fisiopatológicas, referidas a função, morfologia e bioenergética mitocondrial, tornando-o um estímulo terapêutico não farmacológico potente e interessante contra distúrbios metabólicos e doenças crônicas, associadas a uma disfunção mitocondrial inicial (BELEZA *et al.*, 2018).

O treinamento aeróbico moderado além de reduzir a produção de EROs, aumenta a biogênese mitocondrial e o metabolismo dos lipídios hepáticos (HU *et al.*, 2013; PINCKARD *et al.*, 2019). Um estudo demonstrou que esse tipo de treinamento durante 8 semanas foi capaz de melhorar a integridade da membrana interna mitocondrial hepática e oxidação de ácidos graxos, em ratos alimentados com dieta rica em gordura (GONÇALVES *et al.*, 2014). Outro trabalho verificou que houve melhora das defesas antioxidantes e redução de danos oxidativos mitocondriais no tecido hepático de ratos adultos que realizaram treinamento aeróbico (LIMA *et al.*, 2013). Também foi observado aumento da atividade das enzimas catalase, SOD, e GPX, além da diminuição dos níveis de malondealdeído (MDA) em ratos jovens submetidos ao treinamento aeróbico (VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2013).

Por último, o treinamento aeróbico a 60% da capacidade máxima, durante 8 semanas, reduziu o estresse oxidativo no fígado, assim como os níveis de peroxidação

lipídica e oxidação de proteínas, e aumentou a atividade da catalase, em ratos com 60 dias de vida alimentados com dieta rica em gordura (LIMA *et al.*, 2018). Assim, o treinamento físico moderado parece beneficiar a capacidade antioxidante hepática, melhorando o metabolismo oxidativo. Estudos envolvendo os efeitos desses tipo de treinamento e o metabolismo oxidativo hepático na prole de ratas alimentadas com dietas obesôgenicas, durante a gestação e lactação, ainda são escassos na literatura, mostrando a importância de se estudar essa relação.

### **3 HIPÓTESE**

Ratas alimentadas com dieta obesogênica materna apresentam maior consumo alimentar e prejuízos no perfil bioquímico e o treinamento físico moderado melhora o balanço oxidativo hepático da prole.

## 4 OBJETIVOS

**4.1 Objetivo geral:** Avaliar o consumo alimentar e o perfil bioquímico de ratas alimentadas com dieta obesogênica materna e os efeitos do treinamento físico moderado sobre o balanço oxidativo hepático da prole.

### 4.2 Objetivos específicos:

Avaliar nas mães que foram submetidas a uma dieta obesogênica durante a gestação e lactação:

- Peso corporal, peso do tecido adiposo abdominal e peso do tecido adiposo visceral;
- Consumo alimentar;
- Perfil bioquímico;
- Teste oral de tolerância a glicose.

Avaliar os efeitos do treinamento físico moderado no fígado da prole (ratos jovens aos 60 dias de vida) provenientes de mães submetidas a uma dieta obesogênica durante a gestação e lactação no (a):

- Consumo alimentar durante o treinamento físico;
- Peso corporal ao nascer, ao desmame e aos 60 dias de vida;
- Perfil bioquímico;
- Peso do tecido hepático, tecido adiposo abdominal e tecido adiposo visceral;
- Níveis de peroxidação lipídica (TBARS);
- Atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione-S-transferase (GST);
- Níveis de grupamentos sulfidrilas (SH);
- Níveis de glutathione reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e estado REDOX celular (razão GSH/GSSG).

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 Animais e Dieta

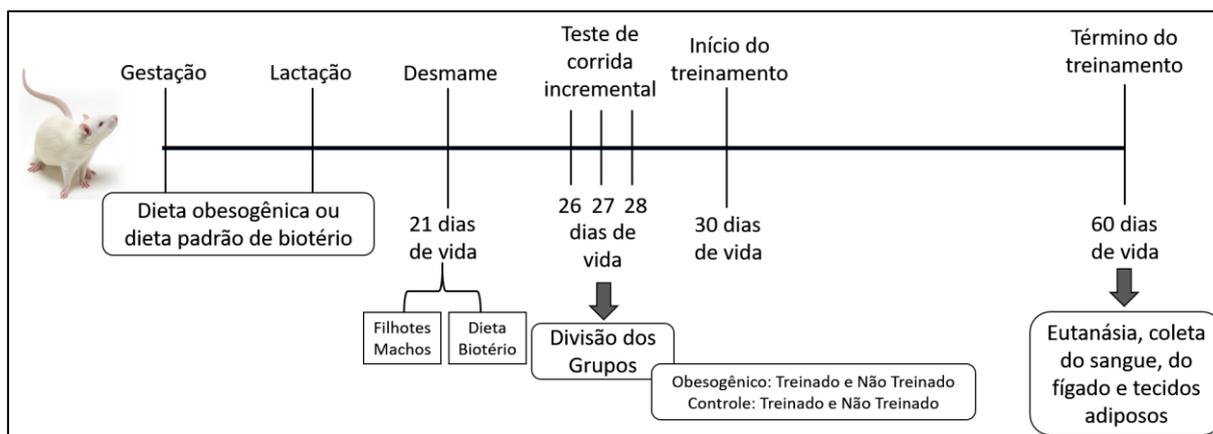
Foram utilizadas 10 ratas da espécie *Rattus norvegicus albinus*, da linhagem *Wistar* provenientes do Departamento de Fisiologia da UFPE, com idade entre 90 e 120 dias, peso entre 220 e 250 g e nulíparas. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação do Centro Acadêmico de Vitória - CAV/UFPE com temperatura de  $22^{\circ} \pm 2$ , ciclo claro-escuro de 12/12 horas. Para o acasalamento, foi monitorado o ciclo estral das ratas e em seguida foram colocadas para acasalar na proporção de duas fêmeas para um macho. Para o diagnóstico do estado de prenhes, foi realizado o esfregaço vaginal para visualização da presença de espermatozoides na cavidade vaginal (MARCONDES, BIANCHI e TANNO, 2002). Logo após a detecção da prenhes as ratas foram divididas em dois grupos e em seguida receberam suas respectivas dietas, o grupo Controle (C) (n=5) que recebeu dieta de biotério Presence® e o grupo Obesogênico (OB) (n=5) que recebeu uma dieta com alto teor de gordura e alto teor de carboidrato (Tabela 1). A dieta Presence Nutrição Animal é composta por 10,9% de lipídios, 28,3% de proteínas, e 60,8% de carboidratos. A dieta obesogênica é composta por alto teor em ácidos graxos saturados, adaptada a partir da composição da dieta ocidentalizada utilizada no estudo de Ferro Cavalcante *et al.*, (2013), com 31,99% da energia proveniente das gorduras, 20,18% das proteínas e 47,82% dos carboidratos, mais a suplementação de leite condensado (Italac) (Corumbáiba, Brasil), com 17,7% de lipídeos, 9,8% de proteínas e 72,3% de carboidratos (valores % em kcal). O leite condensado foi ofertado separadamente da ração em um recipiente de vidro instalado na gaiola. A dieta foi ofertada a partir da detecção da prenhes e durante toda a gestação e lactação. Após o período de lactação (21 dias), somente os filhotes machos foram utilizados nos experimentos. Estes receberam dieta de biotério Presence®. Logo após o desmame, os animais foram subdivididos em quatro grupos de acordo com a prática ou não de treinamento físico: Controle não Treinado (CNT); Controle Treinado (CT); Obesogênico não Treinado (ONT) e Obesogênico Treinado (OT). As análises ocorreram quando os animais completaram 60 dias de vida (Figura 3). O presente projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da UFPE (n° 0061/2019-ANEXO I), seguindo as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Tabela 1 - Composição quanto aos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Ingrediente/quantidade por 100g de dieta	Presence®	Dieta ocidentalizada (g)	Leite condensado (Italac)
Amido de milho	-	11,8	-
Farinha de trigo	-	12,0	-
Biscoito maisena	-	7,2	-
Farinha de soja	-	8,5	-
Banha de porco	-	5,5	-
Margarina (65% de lipídios)	-	3,5	-
Creme de leite (20% de lipídios)	-	3,0	-
Caseína (>85%)	-	20,0	-
Sacarose	-	20,0	-
Óleo de soja	-	4,0	-
Fibra (celulose)	-	0,3	-
Mix mineral*	-	2,5	-
Mix vitamínico**	-	0,7	-
DL-Metionina	-	0,3	-
Bitartarato de colina	-	0,25	-
BTH	-	0,0014	-
Cloreto de sódio	-	0,36	0,026
Cálcio	-	-	0,058
Total (g)	-	100	-
Kcal /100g	3,44	4,52	304
% Gorduras totais	10,9	31,99	17,7
% Proteínas	28,3	20,18	9,8
% Carboidratos	60,8	47,82	72,3

Fonte: Dieta de biotério Presence®; Dieta ocidentalizada baseada no estudo de Ferro Cavalcante *et al.*, 2013, adaptada da pesquisa de Orçamento Alimentar (POF) 2002/2003; Cálculos baseados na informação da composição nutricional enviada pelo fornecedor do produto e da Tabela B.Krasileira de Composição de Alimentos (TBCA). A composição centesimal foi analisada no Laboratório de Análise Alimentar/UFPE. \*O Mix Mineral é composto pelos seguintes reagentes (em mg/Kg de dieta): CaHPO<sub>4</sub>, 17.200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO, 420; MgSO<sub>4</sub>, 2000; Fe<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 120; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 200. \*\* O Mix Vitamínico é composto pelos seguintes reagentes (em mg/Kg de dieta): Ácido fólico, 200; ácido Nicotínico, 3000; Biotina, 20; Pantotenato de Cálcio, 1600; Piridoxina.HCl, 700; Riboflavina, 600; Tiamina.HCl, 600; Vitamina A, 400.000UI; Vitamina B12, 2500; Vitamina D3, 100.000UI; Vitamina E, 7500UI; Vitamina K1, 75 Leite condensado (Italac), composição alimentar calculada de acordo com o rótulo do produto.

Figura 3 - Modelo experimental.



Fonte: A Autora, 2021.

## 5.2 Protocolo de treinamento físico

Os animais foram submetidos no 26º, 27º e 28º dias de vida a um teste de corrida aeróbia incremental até a fadiga. Nesse teste foi avaliado o desempenho dos animais com progressão da velocidade em 0,1 km/h cada 3 minutos (BROOKS, 1978; RODRIGUES, 2007). A fadiga foi definida como um ponto em que os animais não foram capazes de manter o ritmo da esteira por mais de 10 segundos. Os animais que conseguiram permanecer correndo por mais tempo durante o teste incremental foram deslocados para o grupo treinado e os que correram menos tempo foram deslocados para o grupo não treinado. Após 48 h do teste incremental, os animais dos grupos controle treinado e obesogênico treinado com completos 30 dias de vida, foram submetidos a um programa de treinamento físico, em esteira ergométrica Inbramed, modelo para ratos 9015.5.X (Figura 4), durante o período noturno (a partir das 18 horas), utilizando o seguinte protocolo experimental (60 min/dia, 5 dias/semana, 4 semanas e a 50% da capacidade máxima atingida para os determinandos grupos experimentais) (Tabela 2). A velocidade da esteira durante cada semana de treinamento foi ajustada de acordo com a média da velocidade dos animais de cada grupo treinado a partir do teste de esforço realizado aos sábados (BROOKS, 1978; RODRIGUES, 2007). Os grupos não treinados permaneceram nas gaiolas, e no mesmo ambiente e tempo dos animais em treinamento (BELLÓ-KEIN *et al.*, 2000; BRAZ *et al.*, 2015).

Tabela 2 - Protocolo de 4 semanas de treinamento físico de acordo com a velocidade e a duração das sessões.

Semana	Velocidade Máxima do teste		50% da capacidade máxima		Duração (min)
	CT	OT	CT	OT	
1º	0,6km/h	0,6km/h	0,3km/h	0,3km/h	60*
2º	0,10km/h	0,12km/h	0,5km/h	0,6km/h	5/50/5**
3º	0,14km/h	0,16km/h	0,7km/h	0,8km/h	5/50/5**
4º	0,16km/h	0,18km/h	0,8km/h	0,9km/h	5/50/5**

\*Duração total de corrida por dia.

\*\*5 minutos iniciais e finais de corrida com a velocidade da semana anterior.

Fonte: A Autora, 2021.

Figura 4 - Esteira ergométrica Inbramed, modelo para ratos 9015.5.X, utilizada no treinamento dos animais.



Fonte: A Autora, 2021.

### 5.3 Consumo alimentar das mães e da prole

O consumo alimentar das mães foi avaliado diariamente durante os períodos de gestação e lactação, e o da prole foi avaliado diariamente durante o período de treinamento físico em esteira. O consumo de ração e leite condensado das mães e a ração da prole foi mensurado pela diferença entre a quantidade ofertada e rejeitada. Em relação ao leite condensado, o peso do pote de cada animal foi medido no início do experimento, e o valor do peso do pote foi subtraído

durante a pesagem do consumo, restando o peso do leite condensado. Para pesar a dieta foi utilizada uma balança eletrônica digital de precisão – Vonder, com capacidade máxima de 10 kg.

#### **5.4 Peso corporal das mães e da prole**

Inicialmente foi verificado o peso pré-gestacional, e após detectar a prenhez, o peso corporal das mães foi avaliado a cada 7 dias, durante toda gestação e lactação. Todos os filhotes foram pesados após o nascimento, ao desmame (21 dias de vida) e aos 60 dias de vida. Foi utilizada uma balança digital de precisão – Marte, com capacidade máxima de 1010g e sensibilidade de pesagem 0,01g.

#### **5.5 Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG) nas mães**

A avaliação do TOTG nas mães ocorreu na última semana de lactação, após serem submetidas a um jejum de 12 horas. O sangue foi coletado a partir de cortes na ponta da cauda do animal, a primeira amostra de sangue foi coletada no tempo zero. Em seguida, foi administrada por gavagem, a solução de glicose a 50% (Equiplax Pharmaceutical Limited) a uma dose de 2 mg/g de peso corporal. A glicemia das amostras de sangue foi medida através do glicosímetro– G-TECH lite, aos 15, 30, 45, 60 e 120 minutos após a administração da solução (KIM; BI, 2015).

#### **5.6 Coleta do sangue, do tecido hepático e do tecido adiposo abdominal e visceral**

Todos os animais (mães e prole) foram eutanasiados através do uso da guilhotina. Durante o procedimento, o sangue foi coletado para as análises bioquímicas, em seguida foi realizada a cirurgia para a remoção do tecido hepático e do tecido adiposo abdominal e visceral, e imediatamente todos os tecidos foram pesados e congelados a -80 °C.

#### **5.7 Avaliação da Glicemia, Colesterol Total e HDL das mães e da prole**

Nas mães as análises foram realizadas no primeiro dia após o desmame e nos filhotes após 48 horas da última sessão de treinamento. As amostras de sangue foram coletadas durante a eutanásia, e condicionadas em tubos sem anti-coagulante, centrifugadas a 3500 RPM, por 10

min para obtenção do soro. O sobrenadante foi coletado com auxílio de pipeta e transferido para um tubo eppendorf e encaminhado para as análises de glicose e colesterol total nas mães e na prole e HDL nas mães, utilizando os kits colorimétricos da Labtest®.

### **5.8 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 2 mM; PMSF 2 mM). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 4000 RPM, durante 10 min, a 4 °C e os sobrenadantes foram submetidos à quantificação proteica.

### **5.9 Dosagem de proteína**

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

### **5.10 Níveis de peroxidação lipídica pela metodologia da Substância Reativa a Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)**

Para a dosagem de TBARS foi utilizada a técnica colorimétrica de Buege e Aust (1978) (BUEGE e AUST, 1978), onde o ácido tiobarbitúrico reage com os produtos da lipoperoxidação, entre eles o malondialdeído e outros aldeídos. As amostras (homogenato de fígado, 300 µg de proteína) foram sequencialmente misturadas com 30% (p/v) de ácido tricloroacético (TCA) e um tampão TRIS 10 mM, pH 7,4. Esta mistura foi centrifugada a 1180 g, durante 10 min e o sobrenadante foi fervido durante 15 min com 0,73% (p/v) de ácido tiobarbitúrico. O pigmento rosa produzido foi medido a 535 nm de absorção utilizando um espectrofotômetro visível Biochrom Libra S12 (Biochrom, EUA) à temperatura ambiente e expresso como mmol/mg de proteína.

### 5.11 Avaliação da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD)

Foi adicionado o homogenato de fígado (80 µg de proteína) a um tampão de carbonato 0,05 M com EDTA 0,1 mM, pH 10,2. A reação foi iniciada com epinefrina 150mM e a atividade da SOD foi determinada pela inibição da auto-oxidação da adrenalina a 30°C. A diminuição da absorbância foi monitorizada utilizando um espectrofotômetro visível Biochrom Libra S12 (Biochrom, EUA) durante 1,5 min, a 480 nm e os resultados expressos como U/mg de proteína. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de proteína necessária para inibir a auto-oxidação de 1 µmol de epinefrina por minuto. A atividade da SOD foi realizada de acordo com o protocolo desenvolvido por Misra e Fridovich (1972).

### 5.12 Avaliação da atividade da enzima Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi realizada como previamente descrito por Aebi (1984) (AEBI, 1984). O princípio do ensaio é baseado na determinação da constante k de decomposição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que nas nossas condições de temperatura e pH foi definido como  $4,6 \times 10^7$ . Assim, 0,3M de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi adicionado a amostra (80 µg de proteína), seguido de adição do tampão fosfato 50mM, pH 7,0, a 20°C. A absorção de decaimento foi monitorizada por 4 min, a 240nm, em espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, USA). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína. Uma unidade de catalase foi definida como quantidade de proteína requerida para converter 1µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O por minuto.

### 5.13 Avaliação da atividade da enzima Glutathione-S-Transferase (GST)

A atividade da GST é diretamente proporcional a taxa de formação do composto DNP-SG (dinitro fenil S glutathione), podendo desta forma ser medida através do monitoramento da taxa de formação do composto. Em uma cubeta de quartzo de 1 mL, foi adicionado a amostra (80µg de proteína) ao tampão fosfato (0.1M), EDTA (1mM), GSH (1mM) e CDNB (1mM). A absorbância (340nm) foi registrada por um período de aproximadamente 3 min com controle da temperatura (30 °C), em espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, USA) de acordo com Habig *et al.*, 1974 (HABIG *et al.*, 1974). Os resultados foram expressos em U/mg proteína. Uma unidade de atividade enzimática da GST foi definida como a quantidade necessária para catalisar a formação de quanto 1µmol do composto DNP-SG por minuto.

#### **5.14 Avaliação dos níveis de sulfidrilas**

O conteúdo de sulfidrilas foi determinado a partir da reação com o composto DTNB (5,5'-dithiobis (2 nitrobenzoic acid) (ELLMAN, 1959). A alíquota do homogenate (200 µg de proteína) foi incubada no escuro após a adição de DTNB 10mM e o volume final foi de 1 mL completado com tampão de extração pH 7.4 e realizada a leitura com absorvância (30°C) a 412nm em espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, USA). Os resultados foram expressos em mmol/mg de proteína.

#### **5.15 Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e estado REDOX celular (razão GSH/GSSG)**

Para avaliar os níveis de GSH, as amostras (80 µg de proteína) foram primeiramente diluídas em tampão fosfato 0,1 M contendo EDTA 5 mM, pH 8,0. Em seguida, uma alíquota da amostra diluída foi incubada com o-Phthallialdeído (OPT) à temperatura ambiente durante 15 min. As intensidades de fluorescência foram medidas a 420 nm e excitação a 350 nm, em um espectrofluorímetro (FLUOStar Omega - BMG Labtech, EUA), e comparadas com uma curva padrão de concentrações conhecidas de GSH (0,25-10 nM) também incubadas com OPT. Para determinar os níveis de GSSG, as amostras (80 µg de proteína) foram incubadas com N-etilmaleimida 0,04 M, durante 30 min em RT, seguido pela adição de tampão NaOH 0,1 M. Quando esta mistura estava pronta, os mesmos passos do ensaio GSH foram seguidos para determinar os níveis de GSSG. Os resultados foram expressos em µM/mg proteína. O estado REDOX foi determinado pela razão de GSH/GSSG segundo o método de Hissin e Hilf (1976)

#### **5.16 Análise estatística**

Os resultados foram apresentados como média±erro padrão da média. Para comparação dos dados foi utilizado o teste de análise de variância ANOVA Two Way seguido do pos-teste de comparações múltiplas TUKEY e o teste “t” de Student não pareado. O nível de significância foi mantido em 5% (p<0,05) para todas as análises. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *GraphPad Prism*, versão 8.0.2 para Windows.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Consumo alimentar durante a gestação e a lactação

Foi observado que o consumo de ração hiperlipídica nas três semanas de gestação foi menor no grupo OB comparado ao grupo C, aos 7 dias (OB:  $68.00 \pm 11.63$  g, n= 5 vs C:  $171.0 \pm 10.23$  g, n=5 p=0.0002), aos 14 dias (OB:  $67.00 \pm 5.357$  g, n=5 vs C:  $198.0 \pm 15.65$  g, n=5 p<0.0001), aos 21 dias (OB:  $74.20 \pm 4.306$  g, n=5 vs C:  $198.2 \pm 13.72$  g, n=5 p<0.0001) (Figura 5). O consumo de leite condensado no grupo OB foi significativamente maior comparado ao consumo de ração hiperlipídica na primeira semana de gestação (aos 7 dias), (Leite condensado:  $127.0 \pm 19.28$  g, n=5 vs Ração hiperlipídica:  $68.00 \pm 11.63$  g, n=5 p=0.0306), e não houve diferença significativa nas semanas seguintes (Figura 6).

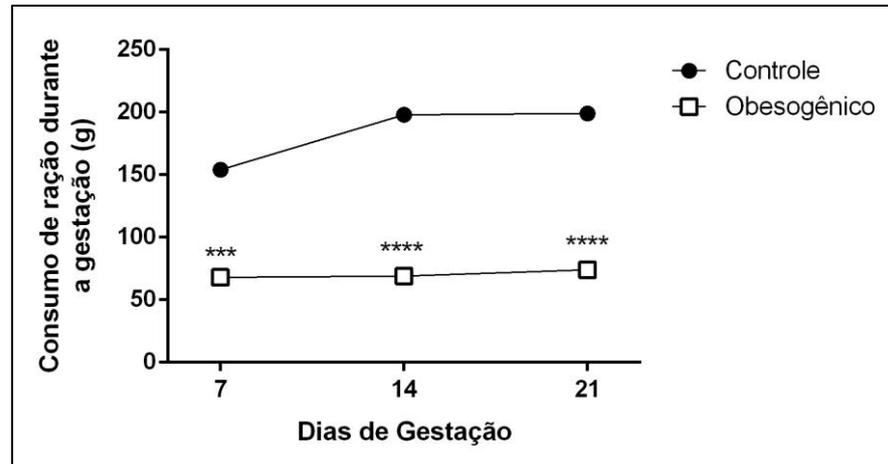
Houve menor consumo de ração nas três semanas de lactação no grupo OB comparado ao grupo C, aos 7 dias (OB:  $76.40 \pm 14.81$  g, n=5 vs C:  $247.6 \pm 5.732$  g, n=5 p<0.0001), aos 14 dias (OB:  $142.2 \pm 11.55$  g, n=5 vs C:  $401.8 \pm 7.419$  g, n=5 p<0.0001), aos 21 dias (OB:  $139.2 \pm 19.77$  g, n=5 vs C:  $375.4 \pm 20.51$  g, n=5 p<0.0001) (Figura 7). Não houve diferença significativa no consumo de leite condensado e ração hiperlipídica durante a lactação no grupo OB (Figura 8).

Foi observado que as ratas do grupo obesogênico consumiram menos proteínas e mais gorduras durante o período total de gestação comparado ao grupo controle, Proteínas (kcal) (OB:  $246,0 \pm 14,23$  kcal, n=5 vs C:  $550,6 \pm 43,39$  kcal; n=5, p=0,0002), Lipídeos (kcal) (OB:  $420,4 \pm 17,61$  kcal, n=5 vs C:  $213,1 \pm 16,79$  kcal, n=5, p<0,0001) (Tabela 3). O consumo de carboidratos e o consumo total dos macronutrientes não apresentaram diferença estatística entre os grupos no período total de gestação (Tabela 3).

Durante o período total de lactação os resultados também demonstraram diminuição do consumo de proteínas e aumento do consumo de gorduras no grupo obesogênico comparado ao grupo controle, Proteínas (kcal) (OB:  $392,0 \pm 42,71$  kcal, n=5 vs C:  $1025 \pm 19,53$  kcal, n=5, p<0,0001), Lipídeos (kcal) (OB:  $674,7 \pm 50,52$  kcal, n=5 vs C:  $396,6 \pm 7,55$  kcal, n=5, p=0,0006) (Tabela 4). Além disso, houve redução do consumo de carboidratos em (kcal) durante o período total de lactação, (OB:  $352,5 \pm 27,10$  g, n=5 vs C:  $550,3 \pm 10,49$  g, n= 5, p=0,0001) e (OB:  $1410 \pm 108,4$  kcal, n= 5 vs C:  $2201 \pm 41,95$  kcal, n= 5, p= 0,0001) no grupo

obesogênico comparado ao grupo controle. O consumo total dos macronutrientes (kcal) também foi menor no grupo obesogênico comparado ao grupo controle durante o período total de lactação (OB:  $2477 \pm 194,0$  kcal,  $n=5$  vs C:  $3623 \pm 69,03$  kcal,  $n=5$ ,  $p=0,0005$ ) (Tabela 4).

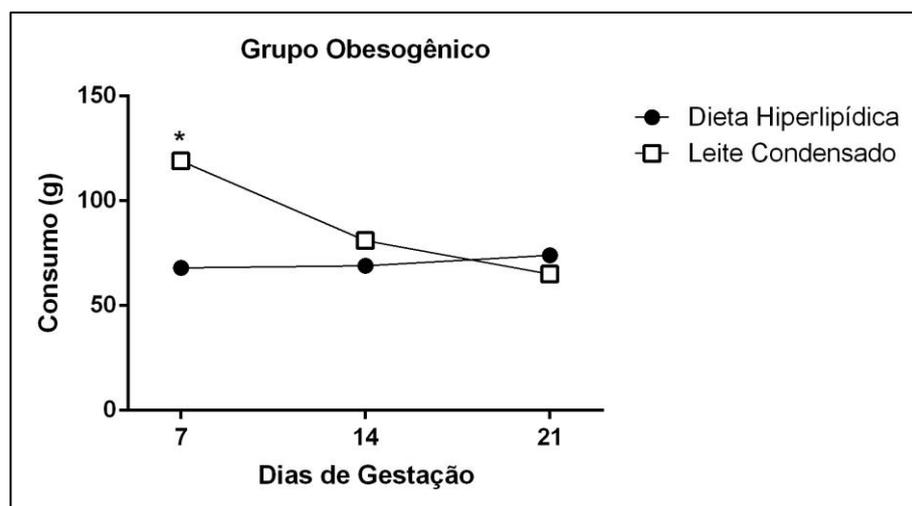
Figura 5 - Avaliação do consumo de ração das mães durante a gestação.



Grupos estudados: Grupo Controle (ração de biotério)  $n=5$ ; Grupo Obesogênico (ração hiperlipídica)  $n=5$ . Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando teste “t” de *Student* não pareado (\*\* $p=0,0002$ ; \*\*\*\* $p<0,0001$ ).

Fonte: A autora (2021).

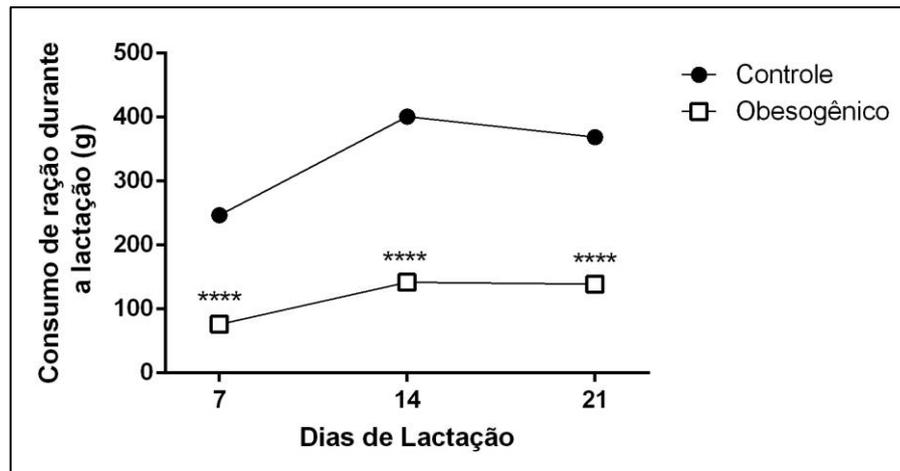
Figura 6 - Avaliação do consumo de ração hiperlipídica e leite condensado durante a gestação de ratas do grupo obesogênico.



Grupo estudado: Grupo Obesogênico (OB)  $n=5$ . Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando teste “t” de *Student* não pareado (\* $p=0,0306$ ).

Fonte: A autora (2021).

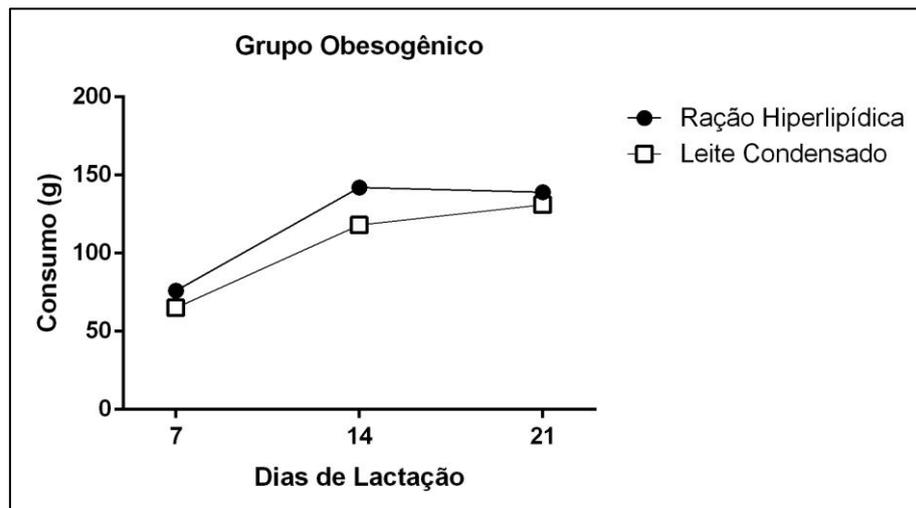
Figura 7 - Avaliação do consumo de ração das mães durante a lactação.



Grupos estudados: Grupo Controle (dieta de biotério) n=5; Grupo Obesogênico (dieta hiperlipídica) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando teste “t” de *Student* não pareado (\*\*\*\*p<0,0001).

Fonte: A autora (2021).

Figura 8 - Avaliação do consumo de ração hiperlipídica e leite condensado durante a lactação de ratas do grupo obesogênico.



Grupo estudado: Grupo Obesogênico (OB) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando teste “t” de *Student* não pareado.

Fonte: A autora (2021).

Tabela 3 - Consumo alimentar em quilocalorias (kcal) a cada semana de gestação de mães do grupo Controle e do grupo Obesogênico.

	1º Semana (kcal)	2º Semana (kcal)	3º Semana (kcal)	Período total da gestação (kcal)	
<b>Controle</b>	Ptna	154,4 ± 15,50	198,0 ± 15,65	198,2 ± 13,72	550,6 ± 43,39
	Lip	59,75 ± 5,99	76,63 ± 6,05	76,70 ± 5,31	213,1 ± 16,79
	CHO	331,7 ± 33,29	425,3 ± 33,61	407,1 ± 38,99	1164 ± 102,0
	<b>Total</b>	<b>545,8 ± 54,78</b>	<b>699,9 ± 55,31</b>	<b>682,0 ± 56,57</b>	<b>1928 ± 161,7</b>
<b>Obesogênico</b>	Ptna	93,67 ± 4,62**	83,22 ± 4,39****	69,15 ± 11,72****	246,0 ± 14,23****
	Lip	154,3 ± 7,75****	132,7 ± 5,91****	133,4 ± 5,29****	420,4 ± 17,61****
	CHO	402,9 ± 35,60	318,1 ± 22,78*	296,9 ± 13,42*	1018 ± 68,41
	<b>Total</b>	<b>650,9 ± 40,99</b>	<b>534,0 ± 31,02*</b>	<b>499,4 ± 18,14*</b>	<b>1684 ± 84,52</b>

Foi considerado significativo a diferença entre o grupo Obesogênico e o grupo Controle em relação à mesma semana de consumo alimentar e macronutriente (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001). Todos os valores foram expressos em média ± EPM, após a realização do teste “t” de Student não pareado.

\*g= gramas, kcal= quilocalorias, Ptna= proteínas, Lip= lipídeos, CHO= carboidratos.

Fonte: A autora (2021).

Tabela 4 - Consumo alimentar em quilocalorias (kcal) a cada semana de lactação de mães do grupo Controle e do grupo Obesogênico.

	1º Semana (kcal)	2º Semana (kcal)	3º Semana (kcal)	Período total da lactação (kcal)	
<b>Controle</b>	Ptna	247,6 ± 5,73	401,8 ± 7,41	375,4 ± 20,51	1025 ± 19,53
	Lip	95,82 ± 2,21	155,5 ± 2,87	145,3 ± 7,93	396,6 ± 7,55
	CHO	531,8 ± 12,31	863,1 ± 15,93	806,4 ± 44,05	2201 ± 41,95
	<b>Total</b>	<b>875,3 ± 20,26</b>	<b>1420 ± 26,23</b>	<b>1327 ± 72,49</b>	<b>3623 ± 69,03</b>

<b>Obesogênico</b>	Ptna	84,02 ± 12,86****	153,9 ± 11,87****	154,1 ± 19,11****	392,0 ± 42,71****
	Lip	167,2 ± 21,54*	252,2 ± 19,36**	255,3 ± 30,22**	674,7 ± 50,52****
	CHO	308,0 ± 37,82****	555,0 ± 40,90****	546,8 ± 39,15**	1410 ± 108,4****
	<b>Total</b>	<b>559,3 ± 52,29****</b>	<b>961,1 ± 72,05****</b>	<b>954,5 ± 86,25*</b>	<b>2477 ± 194,0****</b>

Foi considerado significativo a diferença entre o grupo Obesogênico e o grupo Controle em relação à mesma semana de consumo alimentar e macronutriente (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001). Todos os valores foram expressos em média ± EPM, após a realização do teste “t” de Student não pareado.

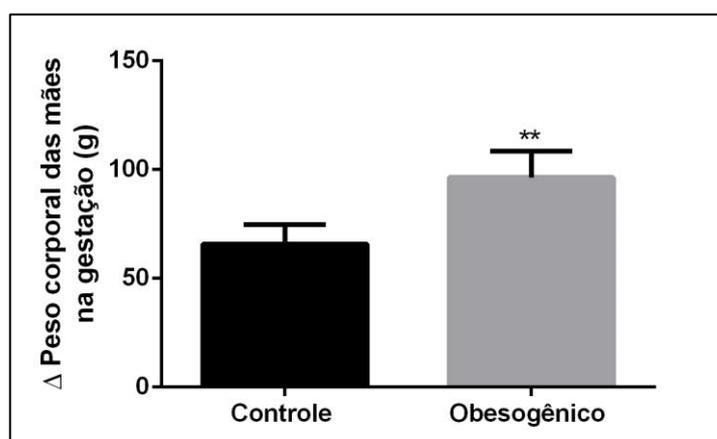
\*g= gramas, kcal= quilocalorias, Ptna= proteínas, Lip= lipídeos, CHO= carboidratos.

Fonte: A autora (2021).

## 6.2 Delta peso corporal durante a gestação e lactação e peso dos tecidos adiposos abdominal (TAA) e visceral (TAV) das mães

Foi verificado que o delta peso corporal das mães na gestação foi maior no grupo OB comparado ao grupo C (OB: 96.40 ± 5.446 g, n=5 vs C: 65.80 ± 4.005 g, n=5, p=0.0019) (Figura 9), mas durante a lactação o delta peso corporal das mães foi menor no grupo OB comparado ao grupo C (OB: 22.60±2.619 g, n=4 vs C: 39.00±5.180 g, n=5, p=0.0194) (Figura 10). As mães do grupo OB apresentaram maior peso do TAA e TAV comparado ao grupo C, TAA (OB: 3.280 ± 0.217 g, n=5 vs C: 2.104±0.183 g, n=5, p=0.0032) (Figura 11) e TAV (OB: 1.391 ± 0.048 g, n=4 vs C: 0.9985 ± 0.095 g, n=4, p=0.0106) (Figura 12).

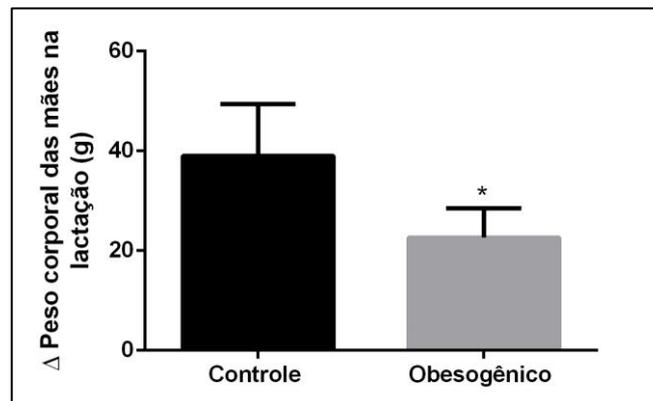
Figura 9 - Avaliação do peso corporal durante a gestação de mães alimentadas com dieta obesogênica.



Grupos estudados: Controle (C) e Obesogênico (OB). N= 5 animais por grupo. Os valores são representados como média ± erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\*\*p=0,0019).

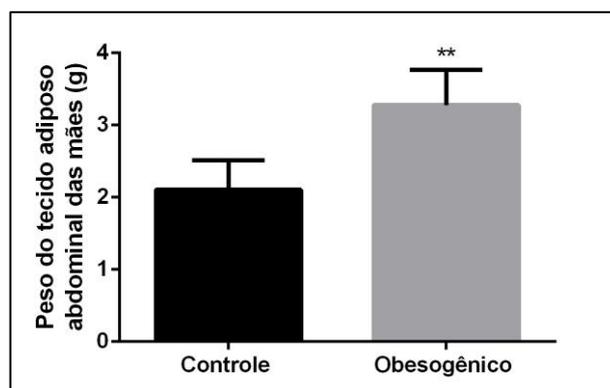
Fonte: A autora (2021).

Figura 10 - Avaliação do peso corporal durante a lactação de mães alimentadas com dieta obesogênica.



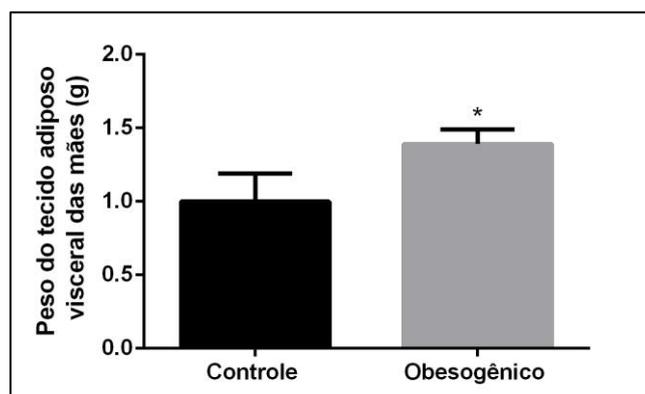
Grupos estudados: Controle (C) n=4; Obesogênico (OB) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\*p=0,0194).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 11 - Avaliação do peso do tecido adiposo abdominal de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle (C) e Obesogênico (OB). N= 5 animais por grupo. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\*\*p=0,0032).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 12 - Avaliação do peso do tecido adiposo visceral de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

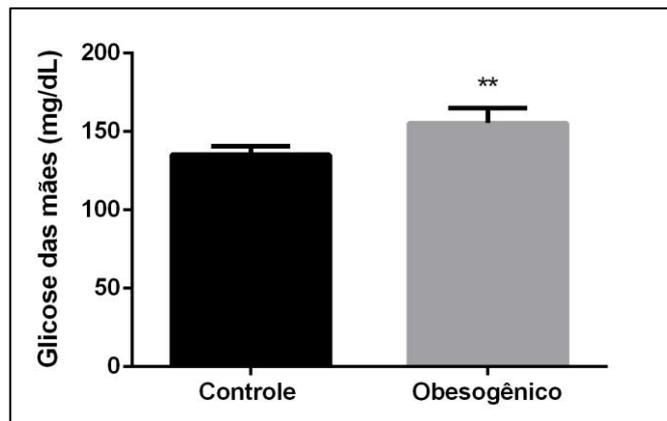


Grupos estudados: Controle (C) e Obesogênico (OB). N= 4 animais por grupo. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\* $p=0,0106$ ).  
Fonte: A autora (2021).

### 6.3 Perfil bioquímico e teste oral de tolerância à glicose (TOTG) das mães

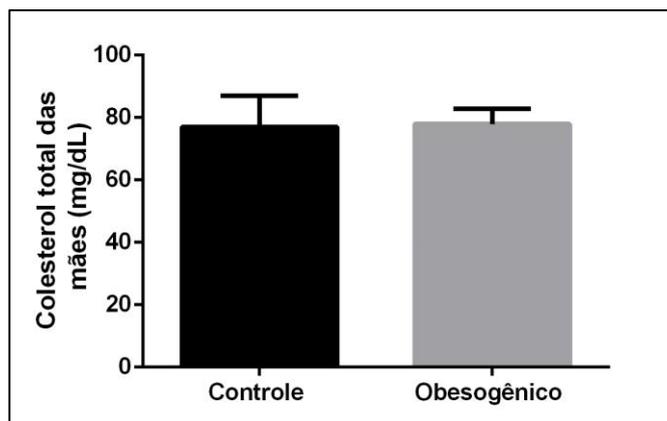
Foi observado que as mães do grupo OB apresentaram maiores níveis de glicose comparado as mães do grupo C (OB:  $155.4 \pm 4.320$  mg/dL,  $n=5$  vs C:  $135.3 \pm 2.675$  mg/dL,  $n=4$ ,  $p=0.0076$ ) (Figura 13); não houve diferença estatística entre os grupos em relação aos níveis de colesterol total (Figura 14), mas os níveis de HDL (Figura 15) foram menores no grupo OB comparado ao grupo C (OB:  $42.23 \pm 0.279$  mg/dL,  $n=4$  vs C:  $45.26 \pm 0.397$  mg/dL,  $n=5$ ,  $p=0.0006$ ). No TOTG (Figura 16) foi observado aumento significativo nos níveis de glicose no grupo OB aos 15, 60 e 120 minutos após a administração da glicose a 50% quando comparado ao grupo C, 15 min (OB:  $209.8 \pm 13.50$  mg/dL,  $n=5$  vs C:  $155.8 \pm 4.090$  mg/dL,  $n=5$ ,  $p=0.0087$ ), 60 min (OB:  $152.3 \pm 10.41$  mg/dL,  $n=5$  vs C:  $122.5 \pm 6.144$  mg/dL,  $n=5$ ,  $p=0.0491$ ) e 120 min (OB:  $132.6 \pm 3.548$  mg/dL,  $n=5$  vs C:  $121.0 \pm 1.581$  mg/dL,  $n=5$ ,  $p=0.0158$ ).

Figura 13 - Avaliação dos níveis séricos de glicose de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



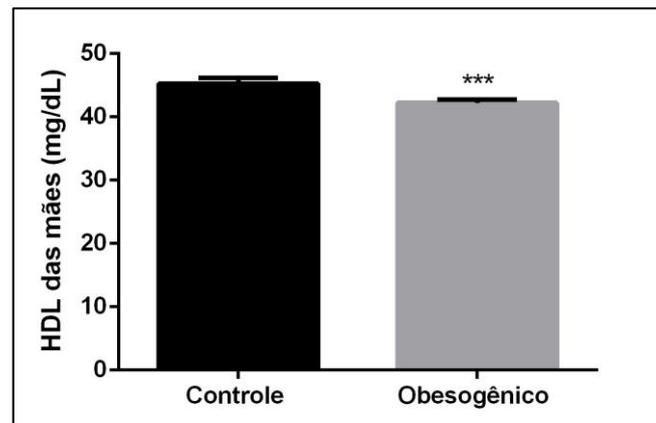
Grupos estudados: Controle (C) n=4; Obesogênico (OB) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\*\*p=0,0076).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 14 - Avaliação dos níveis de colesterol total de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



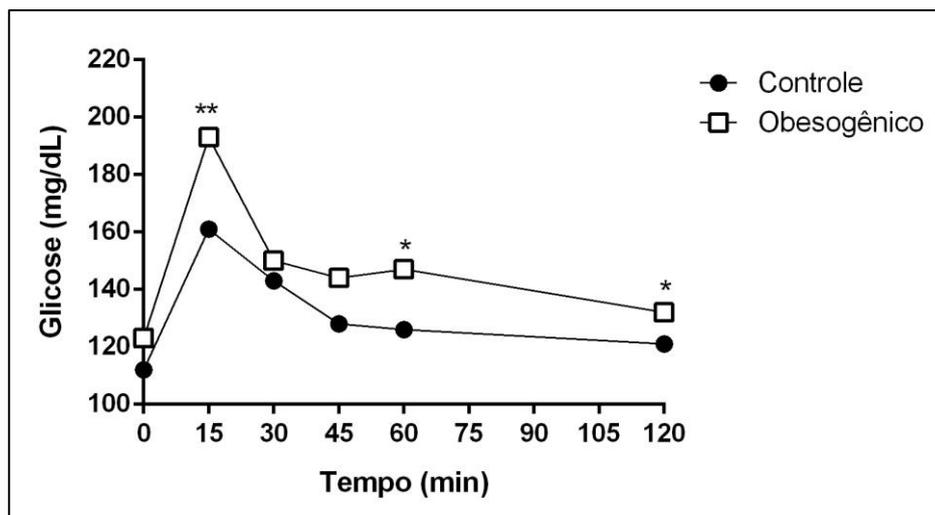
Grupos estudados: Controle (C) n=4; Obesogênico (OB) n=4. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado.  
Fonte: A autora (2021).

Figura 15 - Avaliação dos níveis de HDL de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle (C) n=5; Obesogênico (OB) n=4. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\*\*p=0,0006).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 16 - Avaliação do teste oral de tolerância a glicose de mães alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle (C) n=4-5; Obesogênico (OB) n=4-5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\*\*p=0,0087; \*p=0,0491; \*p=0,0158 respectivamente em relação ao tempo de 15 min, 60 min e 120 min).  
Fonte: A autora (2021).

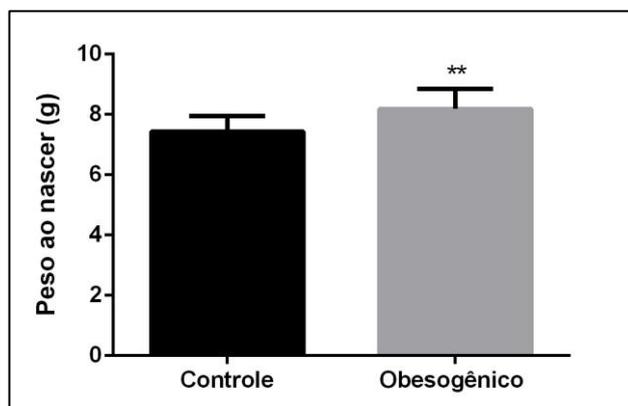
#### 6.4 Peso corporal da prole ao nascer, ao desmame e aos 60 dias de vida e consumo alimentar durante o programa de treinamento físico

O peso corporal da prole ao nascer e ao desmame foi maior no grupo de filhotes de mães OB comparado ao grupo de filhotes de mães C, peso ao nascer (Filhotes OB:  $8.188 \pm 0.1638$  g, n=16 vs Filhotes C:  $7.438 \pm 0.1281$  g, n=16 p=0.0011), peso ao desmame (Filhotes OB:  $49.50 \pm 0.7012$  g, n=16 vs Filhotes C:  $0,41.69 \pm 0,6753$  g, n=16 p<0.0001). O peso corporal aos

60 dias de vida foi diminuído no grupo OT comparado ao grupo ONT (OT: 174.7 vs ONT: 203.0 ± 6.658 g, p=0.0020), e no grupo CT comparado ao grupo CNT (CT:152.4 vs CNT: 174.8 ± 6.268 g, p=0.0094), e aumentado no grupo ONT comparado ao grupo CNT (ONT: 203.0 vs CNT: 174.8 ± 6.954 g, p=0.0032), além do grupo OT comparado ao grupo CT (OT: 174.7 vs CT: 152.4 ± 5.938 g, p= 0.0063).

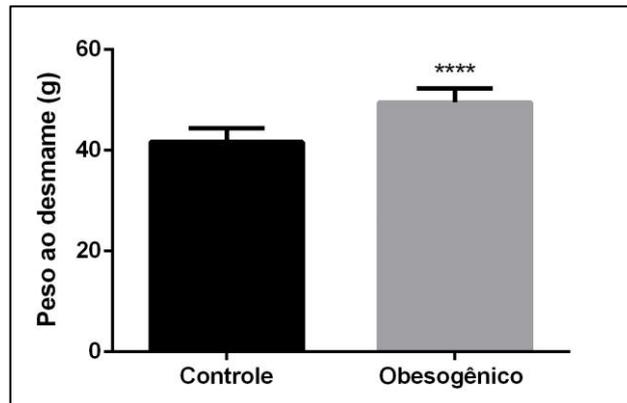
Foi verificado que o consumo de proteínas, lipídeos, carboidratos e as calorias totais da dieta foram menores durante o período total de treinamento físico nos grupos treinados comparados com os grupos não treinados, Proteínas (kcal) (OT: 580,75 ± 10,54 vs ONT: 660,25 ± 40,92 kcal, p=0.034; CT: 591,00 ± 20,44 vs CNT: 669,79 ± 25,01 kcal, p=0.044), Lipídeos (kcal) (OT: 224,75 ± 4,08 vs ONT: 225,52 ± 15,83 kcal, p=0.034; CT: 229,10 ± 7,91 vs CNT: 259,21 ± 9,68 kcal, p=0.044), Carboidratos (kcal) (OT: 1247,45 ± 22,64 vs ONT: 1418,52 ± 87,89 kcal, p=0.034; CT: 1271,62 ± 43,91 vs CNT: 1438,70 ± 53,73 kcal, p=0.044), Calorias Totais (kcal) (OT: 2052,95 ± 37,26 vs ONT: 2333,98 ± 144,64 kcal p=0.034; CT: 2092,72 ± 72,26 vs CNT: 2367,69 ± 88,42 kcal, p=0.044) (Tabela 5).

Figura 17 - Avaliação do peso ao nascer da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



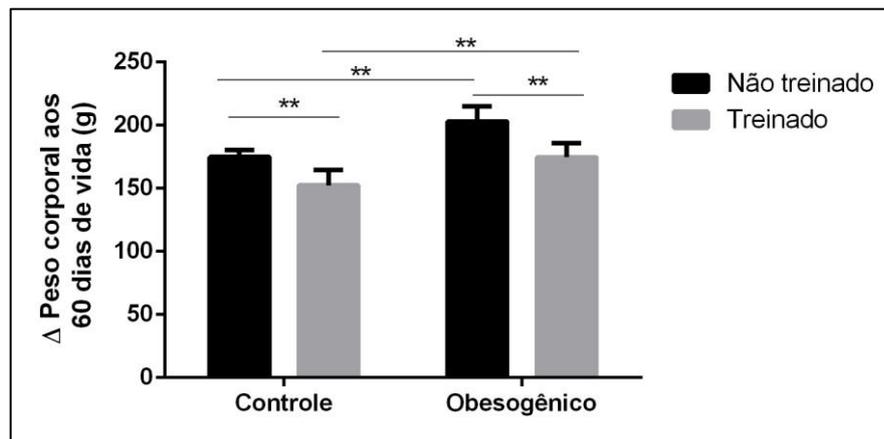
Grupos estudados: Controle (C) n=16; Obesogênico (OB) n=16. Os valores são representados como média ± erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\*\*p=0,0011).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 18 - Avaliação do peso ao desmame da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle (C) n=16; Obesogênico (OB) n=16. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (\*\*\*\*p=0,0001).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 19 - Avaliação do peso corporal aos 60 dias de vida da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=5; Obesogênico não Treinado (ONT) n=5; Controle Treinado (CT) n=8 ; Obesogênico Treinado (OT) n=6. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (CT vs CNT \*\*p=0,0094; OT vs ONT \*\*p=0,0020; ONT vs CNT \*\*p=0,0032; OT vs CT \*\*p=0,0063).  
Fonte: A autora (2021).

Tabela 5 - Consumo alimentar durante o treinamento físico em quilocalorias (kcal) por semana e por macronutrientes da dieta.

		1º Semana (kcal)	2º Semana (kcal)	3º Semana (kcal)	4º Semana (kcal)	Período total treinamento (kcal)
<b>CNT</b>	Ptna	134,28± 3,60	167,50± 8,22	196,25± 8,69	196,25± 23,08	669,79± 25,01
	Lip	49,92± 1,39	64,82± 3,18	75,95± 3,36	75,95± 8,93	259,21± 9,68
	CHO	277,09± 7,72	359,79± 17,65	420,47± 18,66	421,55± 49,58	1438,70± 53,73
	<b>Total</b>	<b>456,02± 12,71</b>	<b>592,11± 29,05</b>	<b>691,98± 30,70</b>	<b>693,74± 81,60</b>	<b>2367,69± 88,42</b>
<b>CT</b>	Ptna	128,29± 6,14	141,03± 5,88	161,53± 6,64	163,00± 2,89	591,00± 20,44 <sup>a*</sup>
	Lip	48,94± 2,37	54,58± 2,28	62,51± 2,57	63,08± 1,12	229,10± 7,91 <sup>a*</sup>
	CHO	271,61± 13,18	302,92± 12,64	346,96± 14,26	350,12± 6,20	1271,62± 43,91 <sup>a*</sup>
	<b>Total</b>	<b>447,00± 21,69</b>	<b>498,52± 20,80</b>	<b>570,99± 23,47</b>	<b>576,21± 10,21</b>	<b>2092,72± 72,26<sup>a*</sup></b>
<b>ONT</b>	Ptna	145,00± 11,07	168,00± 18,99	165,25± 10,61	187,25± 7,45	660,25± 40,92
	Lip	68,85± 4,28 <sup>c</sup>	65,02± 7,35	63,95± 4,11	72,47± 2,88	225,52± 15,83
	CHO	288,38± 23,77	360,86± 40,80	354,96± 22,79	402,21± 16,01	1418,52± 87,89
	<b>Total</b>	<b>460,68± 39,12</b>	<b>593,88± 67,14</b>	<b>584,16± 37,51</b>	<b>661,93± 16,34</b>	<b>2333,98± 144,64</b>
<b>OT</b>	Ptna	113,67± 4,17	140,25± 11,78	166,25± 5,80	168,25± 7,67	580,75± 10,54 <sup>b*</sup>
	Lip	41,02± 1,61	54,28± 4,56	64,34± 2,25	65,11± 2,97	224,75± 4,08 <sup>b*</sup>
	CHO	227,69± 8,95	301,26± 25,30	357,11± 12,46	361,40± 16,47	1247,45± 22,64 <sup>b*</sup>
	<b>Total</b>	<b>374,71± 14,73</b>	<b>495,78± 41,64</b>	<b>587,69± 20,51</b>	<b>594,76± 27,11</b>	<b>2052,95± 37,26<sup>b*</sup></b>

Foi considerado significativo a diferença entre os grupos: Obesogênico não Treinado (ONT) n=8, Obesogênico Treinado (OT) n=8, Controle não Treinado (CNT) n=8 e Controle Treinado (CT) n=8, em relação à mesma semana de consumo alimentar e macronutriente. Todos os valores foram expressos em média ± EPM, após a realização do teste ANOVA Two-Way seguido do teste de comparações múltiplas TUKEY, considerando p<0,05. g= gramas,

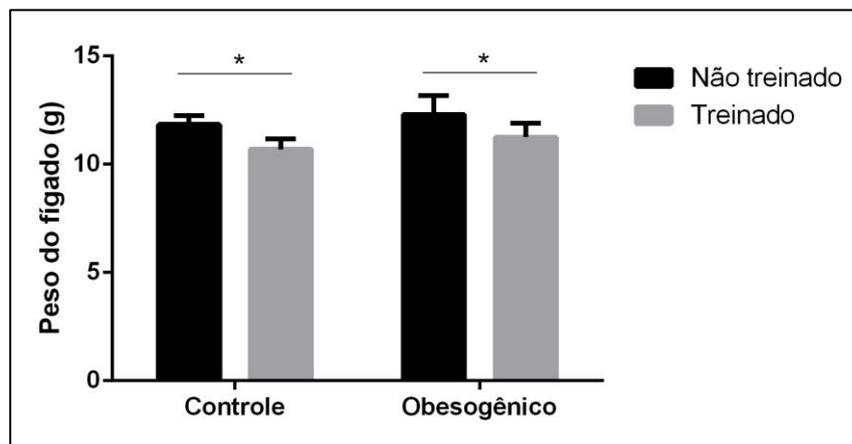
kcal= quilocalorias, Ptna= proteínas, Lip= lipídeos, CHO= carboidratos; **a:** CT vs CNT, **b:** OT vs ONT, \*= p<0,005.

Fonte: A autora (2021).

### 6.5 Peso do fígado e do tecido adiposo abdominal e visceral, e perfil bioquímico da prole

O peso do fígado foi menor no grupo OT comparado ao grupo ONT (OT: 11.26 vs ONT:  $12.31 \pm 0.3546$  g,  $p=0.0336$ ), e no grupo CT comparado ao grupo CNT (CT: 10.70 vs CNT:  $11.85 \pm 0.3317$  g,  $p= 0.0109$ ). O peso do TAA foi menor no grupo OT quando comparado ao grupo ONT (OT: 2.284 vs ONT:  $3.360 \pm 0.2759$  g,  $p=0.0058$ ), e no grupo CT comparado ao grupo CNT (CT: 1.652 vs CNT:  $2.598 \pm 0.2882$  g,  $p=0,0207$ ). O peso do TAV apresentou diminuição do grupo OT comparado ao grupo ONT (OT: 2.191 vs ONT:  $2.639 \pm 0.1345$  g,  $p=0.0169$ ), e foi maior no grupo ONT quando comparado ao grupo CNT (ONT: 2.639 vs CNT:  $2.103 \pm 0.1283$  g,  $p=0.0026$ ). Em relação ao perfil bioquímico, foi observado que os níveis de glicose foram menores no grupo OT quando comparado ao grupo ONT e ao grupo CT, (OT: 125.8 vs ONT:  $166.2 \pm 8.408$  mg/dL,  $p=0.0008$ ; OT: 125.8 vs CT:  $150.0 \pm 8.017$  mg/dL,  $p=0.0342$ ), e os níveis de colesterol total foram menores no grupo OT comparado ao grupo ONT (OT: 60.82 vs ONT:  $75.70 \pm 4.500$  mg/dL,  $p=0.0209$ ), e não houve diferença estatística entre os grupos CT e CNT.

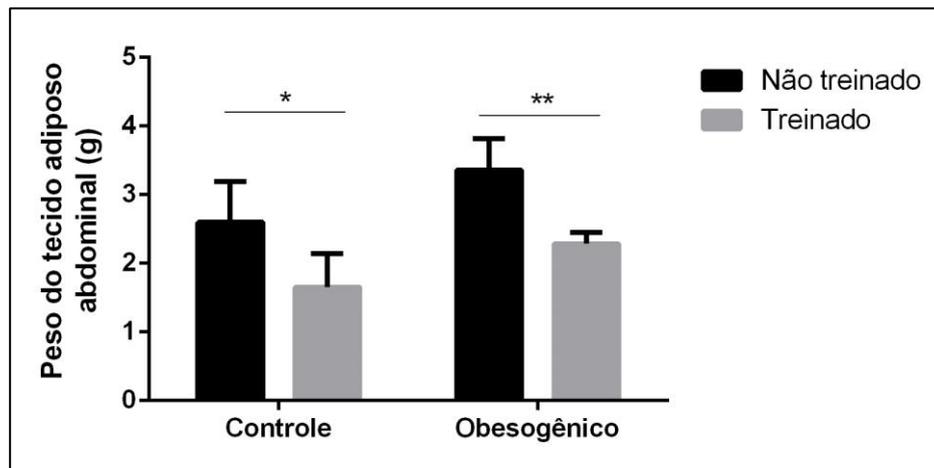
Figura 20 - Avaliação do peso do fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=6; Obesogênico não Treinado (ONT) n=6; Controle Treinado (CT) n=8; Obesogênico Treinado (OT) n=6. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (CT vs CNT  $*p=0,0109$ ; OT vs ONT  $*p=0,0336$ ).

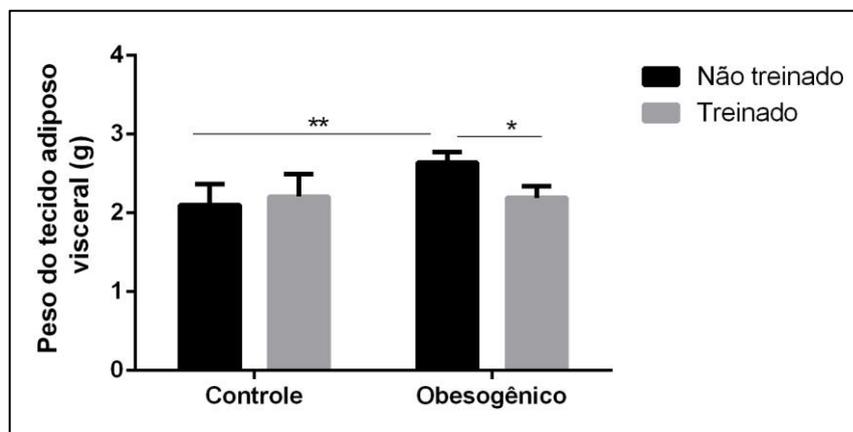
Fonte: A autora (2021).

Figura 21 - Avaliação do peso do tecido adiposo abdominal da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



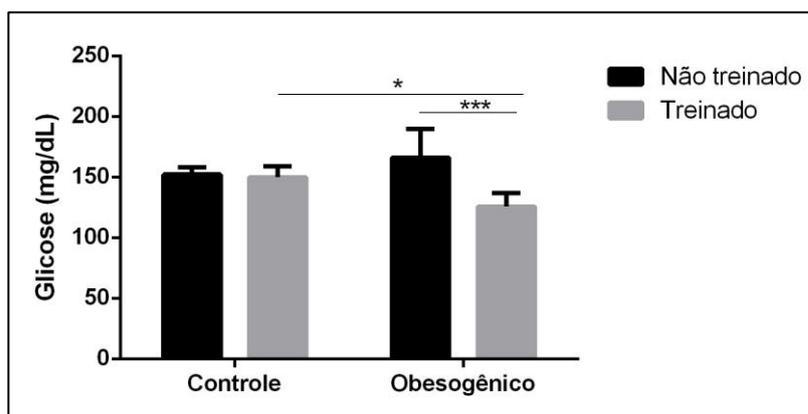
Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=6; Obesogênico não Treinado (ONT) n=6; Controle Treinado (CT) n=8; Obesogênico Treinado (OT) n=6. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (CT vs CNT \*p=0,0207; OT vs ONT \*\*p=0,0058).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 22 - Avaliação do peso do tecido adiposo visceral da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



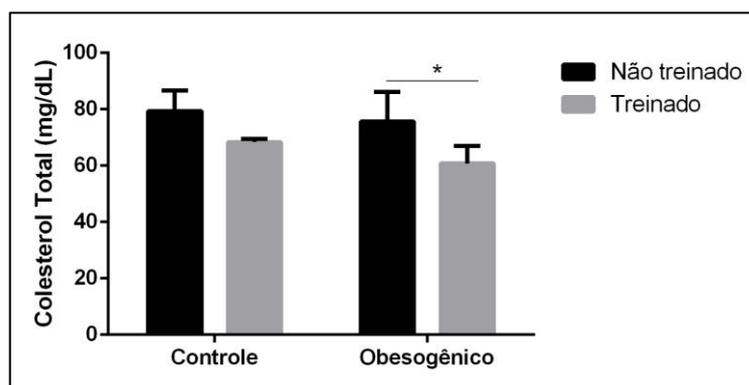
Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=6; Obesogênico não Treinado (ONT) n=6; Controle Treinado (CT) n=6; Obesogênico Treinado (OT) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (ONT vs CNT \*\*p=0,0026; OT vs ONT \*p=0,0169).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 23- Avaliação dos níveis de glicose da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=5; Obesogênico não Treinado (ONT) n=5; Controle Treinado (CT) n=6; Obesogênico Treinado (OT) n=6. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (OT vs CT \*p=0,0254; OT vs ONT \*\*\*p=0,0008).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 24 - Avaliação dos níveis de colesterol total da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



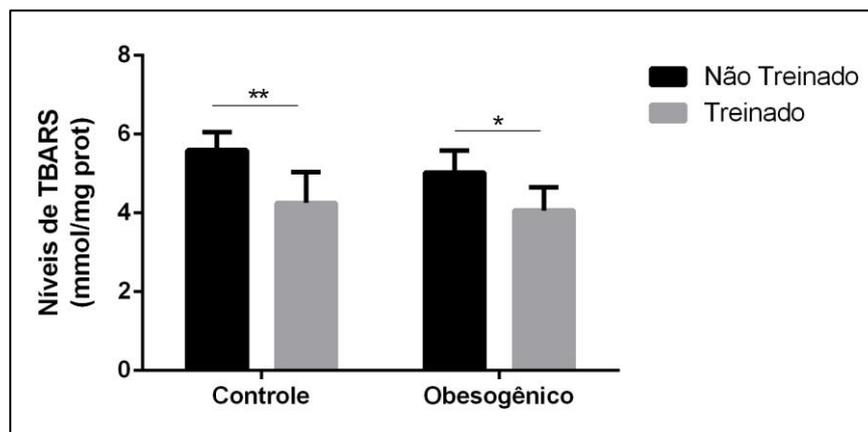
Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=5; Obesogênico não Treinado (ONT) n=5; Controle Treinado (CT) n=5; Obesogênico Treinado (OT) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (CT vs CNT \*p=0,0209).  
Fonte: A autora (2021).

## 6.6 Biomarcador de estresse oxidativo e atividade antioxidante enzimática no fígado da prole

Foi observado diminuição de peroxidação lipídica no grupo OT comparado ao grupo ONT (OT: 4.065 vs ONT: 5.032  $\pm$  0.9672 nmol/mg protein, p=0,0409), e no grupo CT comparado ao grupo CNT (CT: 4.260 vs CNT: 5.595  $\pm$  1.335 nmol/mg protein, p=0.0049). Houve aumento da atividade enzimática da SOD no grupo OT comparado ao grupo ONT e ao grupo CT, (OT: 220.1 vs ONT: 159.2  $\pm$  15.34 U/mg de protein, p=0.0042; OT: 220.1 vs CT: 63.76  $\pm$  16.14 U/mg de protein, p<0.0001), e aumento da atividade da SOD no grupo ONT comparado ao grupo CNT (ONT: 159.2 vs CNT: 78.61  $\pm$  16.69 U/mg de protein, p=0.0006).

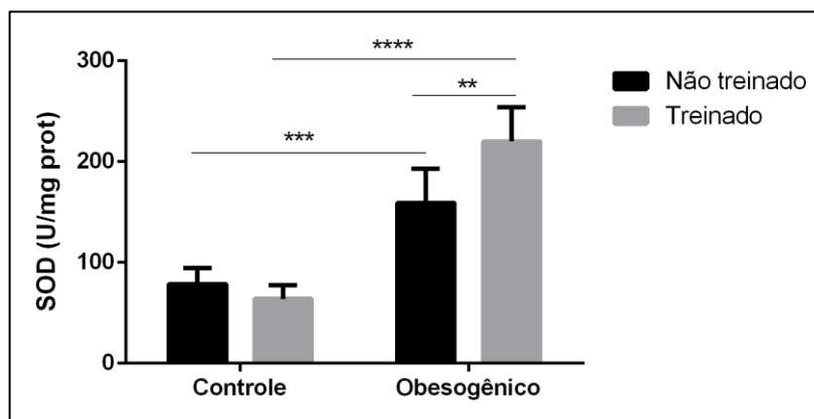
A atividade enzimática da catalase apresentou aumento no grupo OT comparado ao grupo ONT (OT: 5.837 vs ONT:  $4.823 \pm 0.3313$  U/mg de protein,  $p=0,0300$ ), e no grupo CT comparado ao grupo CNT (CT: 5.488 vs CNT:  $4.403 \pm 0.3426$  U/mg de protein,  $p= 0.0240$ ). Houve aumento da atividade enzimática da GST no grupo OT comparado ao grupo ONT e ao grupo CT, (OT: 27.82 vs ONT:  $23.94 \pm 1.373$  U/mg de protein,  $p=0.0472$ ; OT: 27.82 vs CT:  $23.34 \pm 1.445$  U/mg de protein,  $p=0.0267$ ).

Figura 25 - Avaliação dos níveis de Substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



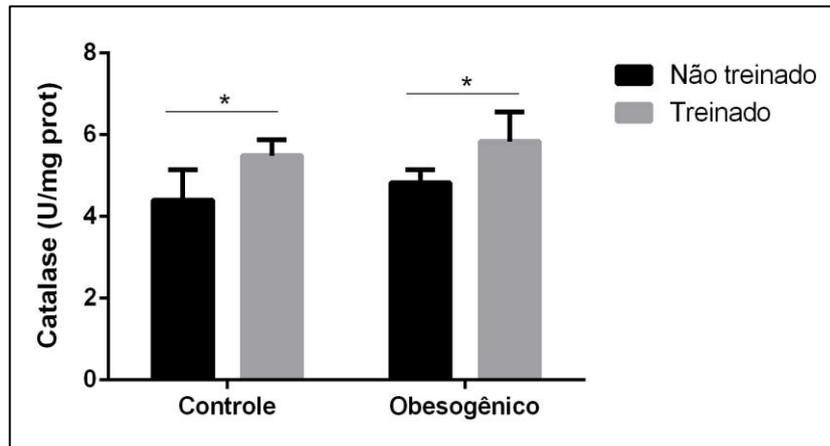
Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT)  $n=6$ ; Obesogênico não Treinado (ONT)  $n=6$ ; Controle Treinado (CT)  $n=6$ ; Obesogênico Treinado (OT)  $n=7$ . Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (CT vs CNT  $**p=0,0049$ ; OT vs ONT  $*p=0,0409$ ).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 26 - Avaliação da atividade enzimática da Superóxido Dismultase no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



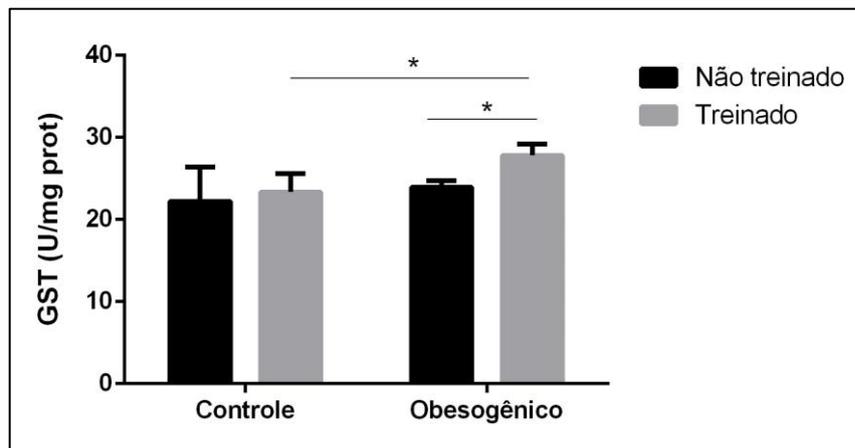
Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT)  $n=5$ ; Obesogênico não Treinado (ONT)  $n=6$ ; Controle Treinado (CT)  $n=5$ ; Obesogênico Treinado (OT)  $n=7$ . Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (ONT vs CNT  $***p=0,0006$ ; OT vs CT  $****p<0,0001$ ; OT vs ONT  $**p=0,0042$ ).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 27 - Avaliação da atividade enzimática da Catalase no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=6; Obesogênico não Treinado (ONT) n=7; Controle Treinado (CT) n=5; Obesogênico Treinado (OT) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (CT vs CNT \*p=0,0240; OT vs ONT \*p=0,0300).  
Fonte: A autora (2021).

Figura 28 - Avaliação da atividade enzimática da Glutathiona-S-Transferase no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



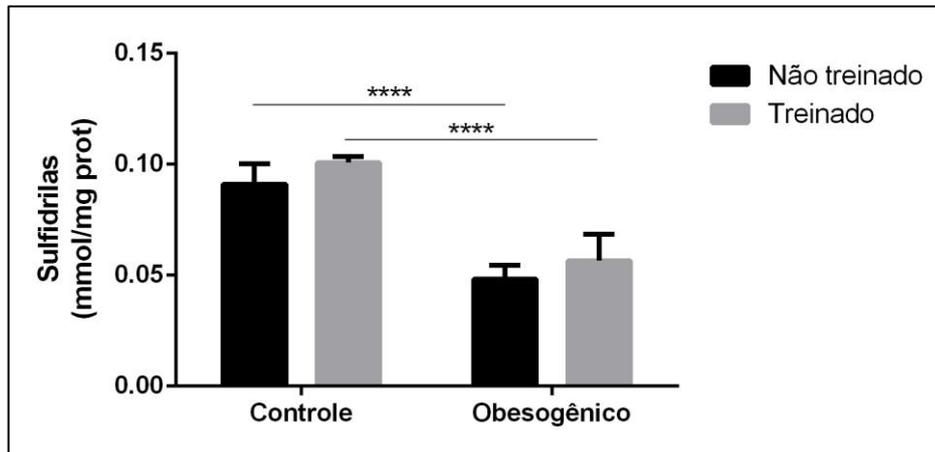
Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=6; Obesogênico não Treinado (ONT) n=6; Controle Treinado (CT) n=5; Obesogênico Treinado (OT) n=7. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (OT vs CT \*p=0,0267; OT vs ONT \*p=0,0472).  
Fonte: A autora (2021).

### 6.7 Atividade antioxidante não enzimática no fígado da prole

Os níveis de grupamentos sulfidrilas (SH) foram menores no grupo OT comparado ao grupo CT (OT: 0.0565 vs CT:  $0.1008 \pm 0.0443$  mmol/mg protein,  $p < 0,0001$ ), e menores no grupo ONT comparado ao grupo CNT (ONT: 0.0483 vs CNT:  $0.0910 \pm 0.0046$  mmol/mg protein,  $p < 0,0001$ ). Os níveis de GSH não mostrou diferença estatística entre os grupos, mas os níveis de GSSG apresentou aumento no grupo OT comparado ao CT (OT: 18.54 vs CT: 11.42

$\pm 1.050 \mu\text{M}/\text{mg}$  protein,  $p < 0.0001$ ) e no grupo ONT comparado ao grupo CNT (ONT:  $15.97$  vs CNT:  $11.13 \pm 10.23 \mu\text{M}/\text{mg}$  protein,  $p = 0.0006$ ). Em relação ao estado redox celular (razão GSH/GSSG) não houve diferença estatística entre os grupos.

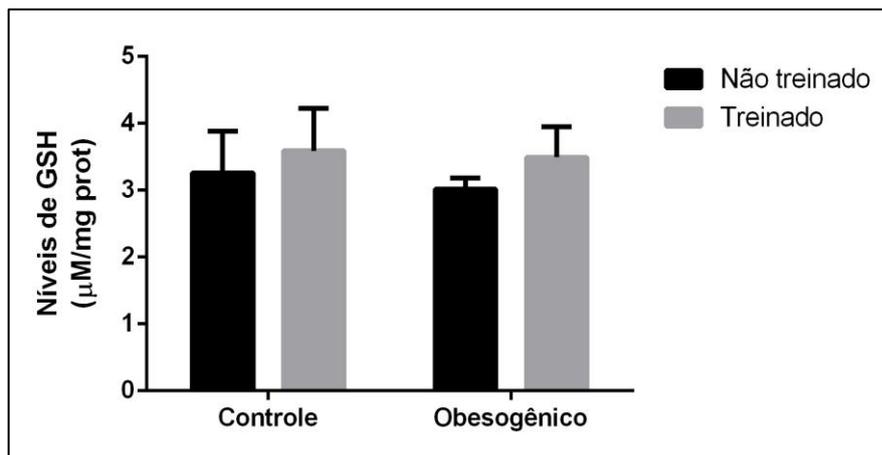
Figura 29 - Avaliação dos níveis de Grupamentos Sulfidrilas no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT)  $n=7$ ; Obesogênico não Treinado (ONT)  $n=6$ ; Controle Treinado (CT)  $n=6$ ; Obesogênico Treinado (OT)  $n=6$ . Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (ONT vs CNT \*\*\*\* $p < 0,0001$ ; OT vs CT \*\*\*\* $p < 0,0001$ ).

Fonte: A autora (2021).

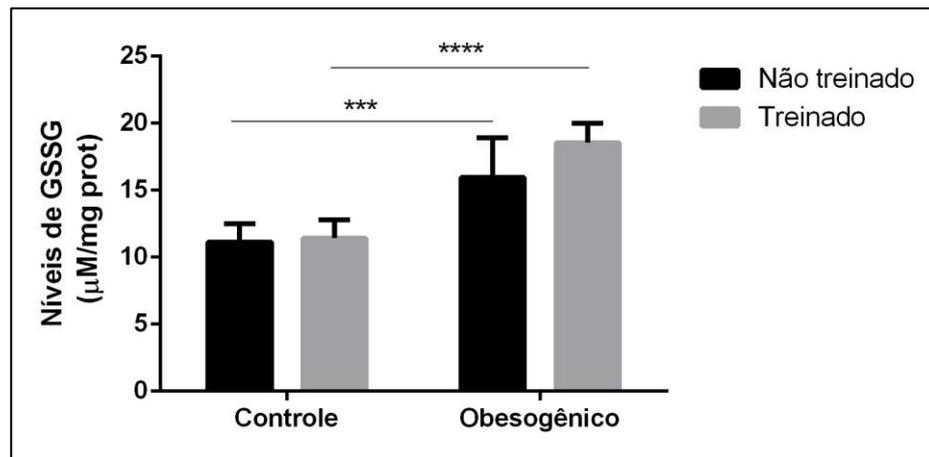
Figura 30 - Avaliação dos níveis de Glutathiona Reduzida no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT)  $n=6$ ; Obesogênico não Treinado (ONT)  $n=6$ ; Controle Treinado (CT)  $n=5$ ; Obesogênico Treinado (OT)  $n=6$ . Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado.

Fonte: A autora (2021).

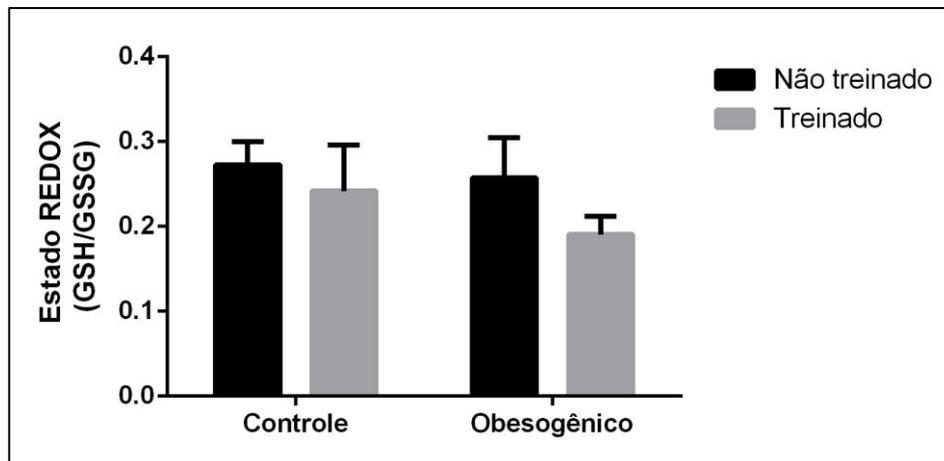
Figura 31 - Avaliação dos níveis de Glutathiona Oxidada no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=8; Obesogênico não Treinado (ONT) n=5; Controle Treinado (CT) n=7; Obesogênico Treinado (OT) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado (ONT vs CNT \*\*\*p=0,0006; OT vs CT \*\*\*\*p<0,0001).

Fonte: A autora (2021).

Figura 32 - Avaliação do Estado Redox (GSH/GSSG) no fígado da prole de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.



Grupos estudados: Controle não Treinado (CNT) n=5; Obesogênico não Treinado (ONT) n=5; Controle Treinado (CT) n=5; Obesogênico Treinado (OT) n=5. Os valores são representados como média  $\pm$  erro padrão da média e foram analisados usando o teste “t” de Student não pareado.

Fonte: A autora (2021).

## 7 DISCUSSÃO

A obesidade materna é considerada um dos principais problemas de saúde pública na atualidade e está relacionada com hábitos alimentares inadequados, baixo índice de atividades físicas e fatores genéticos (LEADDY; POWER; SCHULHIN, 2008). Dietas com altos teores de gorduras e carboidratos, mais conhecidas como dietas ocidentais, têm sido um dos fatores responsáveis pelo ganho de peso durante a gestação (WONG *et al.*, 2018). As dietas obesogênicas durante os períodos críticos de desenvolvimento têm sido associadas a efeitos adversos na saúde das mães e dos filhos, podendo causar, por exemplo, obesidade, doenças hepáticas e síndrome metabólica na idade adulta (HOWIE *et al.*, 2009).

O consumo de alimentos palatáveis tem sido uma das características da indução de obesidade materna em roedores, sendo comparada com o consumo de dieta ocidentalizada que é consumida pelos humanos, inclusive no período gestacional (MUSIAL *et al.*, 2017). Os resultados do presente estudo demonstraram que as ratas do grupo OB consumiram menos ração hiperlipídica comparado ao consumo de ração de biotério do grupo C durante o período de gestação e lactação, mas o consumo de leite condensado foi maior na primeira semana gestacional, seguido de um consumo em quantidades próximas nas duas últimas semanas. Na lactação não houve diferença entre o consumo de leite condensado e ração hiperlipídica. As ratas obesogênicas também consumiram quantidades maiores de gorduras e menores de proteínas durante a gestação e lactação comparadas as ratas controles, além de reduzir o consumo de carboidratos na lactação.

Corroborando parcialmente com os nossos resultados, outro estudo demonstrou aumento na ingestão calórica de gorduras durante a gestação e lactação de mães que receberam a dieta obesogênica em relação as ratas controles. Em contra partida, nesse mesmo estudo também foi observado aumento da ingestão de açúcares simples no grupo de mães obesogênicas durante a gestação comparadas as ratas controle, e esse aumento continuou a mostrar um valor calórico maior ingerido durante a lactação (KIRK *et al.*, 2009). Desai, *et al.*, (2014) observou que ratas alimentadas com dieta ocidentalizada tiveram consumo alimentar em maior quantidade calórica na gestação derivada principalmente por meio de gorduras, e uma menor quantidade de carboidratos durante a gestação e lactação, mesmo que a ingestão total de alimentos tenha sido semelhante nos dois períodos (DESAI *et al.*, 2014). A ingestão nutricional materna também foi demonstrada em outros estudos que utilizaram dietas que induzem obesidade em ratas no período

materno, observando aumento do consumo de gorduras e açúcar com redução da ingestão de proteínas quando comparadas as ratas controles, corroborando parcialmente com os nossos achados (BAYOL; FARRINGTON; STICKLAND, 2007; AKYOL; MCMULLEN; LANGLEY-EVANS, 2012; GEORGE, *et al.*, 2019).

O aumento excessivo de ingestão calórica, independente da fonte, leva a um maior ganho de peso corporal (MARTINEZ *et al.*, 2014). Nossos resultados mostraram que a dieta obesogênica foi capaz de desenvolver excesso de peso na gestação, corroborando com outros estudos que utilizaram o modelo de dieta obesogênica, e observaram o ganho de peso e desenvolvimento de obesidade gestacional (KIRK *et al.*, 2009; FERNANDEZ-TWINN *et al.*, 2012; LOCHE *et al.*, 2018). Durante a lactação, o peso corporal das mães OB diminuiu comparado ao grupo C. Resultado semelhante ao nosso, foi observado em ratas que receberam dieta de *junk-food* na gestação e lactação, e apresentaram perda de peso significativamente maior durante a segunda semana de lactação em comparação com as mães controle, além de apresentar maior massa de gordura abdominal (ONG; MUHLHAUSLER, 2011). A perda de peso em ratas durante a lactação também foi vista no estudo de George, *et al.* (2019), que utilizou dieta de cafeteria no período materno, e mesmo com a redução de peso corporal na lactação, as ratas tiveram o maior adiposidade visceral (GEORGE, *et al.*, 2019).

Os estudos mencionados acima corroboram com os nossos achados, onde foi verificado aumento da adiposidade abdominal e visceral nas ratas que receberam dieta obesogênica materna, mesmo com redução de peso corporal na lactação. A perda de peso durante a lactação pode ser decorrente da alta demanda metabólica nesse período, já que durante a gestação aumenta a deposição de gordura para fornecer maiores reservas de energia para a manutenção do desenvolvimento fetal e posteriormente para a amamentação (GRATTAN; LADYMAN; AUGUSTINE, 2007). Outra possibilidade para justificar o menor peso na lactação, seria o aumento da mobilização de massa magra nesse período (CREW; WADDELL; MARK, 2016), o que exigiria uma maior investigação futura sobre o assunto.

Em relação ao perfil bioquímico das mães, observamos que as ratas que receberam dieta obesogênica apresentaram aumento do níveis de glicose, sem alteração nos níveis de colesterol total, e reduziu os níveis de HDL quando comparadas com as ratas do grupo controle. Esses dados corroboram com o estudo de Li *et al.*, (2017), que também observou aumento de glicose e colesterol total, com diminuição de HDL em ratas com obesidade materna induzida por dieta com alto teor de gordura durante a gestação e a lactação comparadas as ratas controle (LI *et al.*,

2017). Outro estudo também demonstrou que os níveis circulantes de glicose foram maiores, assim como os níveis de colesterol total e HDL ao desmame em ratas alimentadas com dieta obesogênica materna em relação ao grupo controle, além de apresentar tolerância à glicose diminuída (FERNANDEZ-TWINN *et al.*, 2014). As alterações lipídicas podem ser consequências de prejuízos no metabolismo de glicose ou até mesmo pode ser o causador desses problemas. Altas quantidades de ácidos graxos livres podem impedir ou alterar o mecanismo de ligação entre os receptores de insulina e os transportadores de glicose, e induzir resistência à insulina e disfunção das células  $\beta$  (BRIAUD *et al.*, 2001; RACHEK, 2014).

A supernutrição materna e ganho de peso excessivo na gestação, pode gerar deficiência nas células  $\beta$  pancreáticas e menor secreção de insulina (BOYLE *et al.*, 2014). Esse acontecimento gera resistência à insulina e desequilíbrio homeostático da glicose, e como consequência hiperglicemia e intolerância à glicose que são características do diabetes gestacional (BOYLE *et al.*, 2014; MOYCE; DOLINSKY, 2018). Nosso resultado do teste de tolerância à glicose mostrou que as mães alimentadas com dieta obesogênica permaneceram com os níveis de glicose elevados durante mais tempo, esse aumento foi significativo aos 15, 60 e 120 minutos do teste comparado as ratas controle, indicando que o grupo de mães OB teve uma menor tolerância à glicose induzida pela dieta obesogênica consumida durante a gestação e lactação. Dados semelhantes foram observados no estudo de Musial *et al.*, (2017), onde mostraram que as concentrações de glicose durante o teste de tolerância à glicose foram mais altas e permaneceram elevadas por mais tempo em mães alimentadas com dieta obesogênica semelhante a do nosso trabalho, e apresentaram esse aumento de glicose aos 30, 45 e 60 minutos do teste (MUSIAL *et al.*, 2017). Outro estudo também observou níveis glicêmicos elevados no tempo de 15 e 30 minutos após a administração da solução de glicose durante o teste de tolerância realizado em ratas gestantes alimentadas com dieta obesogênica materna, comparada ao grupo de mães controle e ao grupo de mães que realizaram exercício físico (FERNANDEZ-TWINN *et al.*, 2017).

Nossos achados mostraram que o peso corporal da prole ao nascer e o peso ao desmame apresentaram-se maiores nos filhotes de mães OB, comparado a prole do grupo de mãe C. Resultados semelhantes ao nosso mostraram que a prole de roedores submetidos a dieta obesogênica materna aumentou da adiposidade corporal e o peso ao nascer (ASHINO *et al.*, 2012; KRASNOW *et al.*, 2011), e peso aumentado ao desmame em relação aos filhotes de mães controle (FRANCO *et al.*, 2012; LOCHE *et al.*, 2018). Observamos também que o peso

corporal da prole no grupo ONT permaneceu aumentado aos 60 dias de vida, mas o treinamento físico reduziu o peso corporal e o peso do TAA nos grupos (CT e OT), comparado aos grupos não treinados, além de diminuir o peso do TAV do grupo OT. Esses achados corroboram com outros estudos onde foi observado melhora do peso corporal, com redução do tecido adiposo de ratos obesos, após 8 semanas de treinamento físico em esteira (WANG *et al.*, 2017; RAHMATI-AHMADABAD *et al.*, 2019). A demanda energética predominante do exercício de intensidade moderada é a oxidação de ácidos graxos, que aumenta a lipólise no tecido adiposo mantendo o exercício por um período mais longo, reduzindo a massa gorda (ACHTEN; JEUKENDRUP, 2003). O peso do fígado também foi menor nos grupos treinados comparados aos grupos não treinados. Uma explicação possível para isso, seria a diminuição da quantidade de gordura hepática, visto que o exercício físico aumenta o metabolismo de oxidação de ácidos graxos e reduz a quantidade de adipócitos de gordura nesse órgão (MARQUES *et al.*, 2010; KEATING *et al.*, 2015).

Verificamos que o consumo alimentar em kcal foi reduzido nos grupos treinados comparados aos grupos não treinados, indicando que o exercício físico induziu a menor ingestão de alimento nos animais. Corroborando com os nossos achados, um estudo publicado recentemente, utilizando um protocolo de 4 semanas de treinamento físico em esteira com ratos machos e fêmeas, investigou a ingestão alimentar dos animais durante o treinamento, e observou que ratos machos treinados apresentaram menor ingestão calórica em relação aos sedentários, enquanto as fêmeas treinadas tiveram maior ingestão de calorias em comparação com as sedentárias (FORIGHT *et al.*, 2020). A redução da ingestão de alimentos durante o treinamento físico moderado em ratos também foi demonstrado por Ebal *et al.*, (2007), onde se observou que a perda de peso não estava relacionada apenas a um aumento no gasto energético, mas também a uma redução da ingestão de alimentos (EBAL *et al.*, 2007).

O colesterol total foi aumentado no grupo ONT, esses dados concordam com estudos que utilizaram modelo de dieta ocidentalizada materna, demonstrando hipercolesterolemia na prole, aos 60 dias (PEREZ *et al.*, 2015) e aos 100 dias de vida (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Porém, o grupo OT apresentou níveis reduzidos de colesterol total ao final do treinamento físico, mostrando a eficácia do exercício aeróbico para o perfil lipídico dos animais treinados. Durante o exercício físico moderado, parece haver um aumento da capacidade dos músculos esqueléticos de utilizar lipídios ao invés de glicogênio para a produção de energia, reduzindo então os níveis de lipídios plasmáticos (EARNEST *et al.*, 2013). Uma possível explicação para

isso, seria o mecanismo de remoção do colesterol da corrente sanguínea pelo processo conhecido por 'transporte reverso de colesterol', durante o exercício aeróbico agudo e crônico (RIEDL *et al.*, 2010; LIRA *et al.*, 2010). Os níveis de glicose apresentaram-se menores no grupo OT, comparado aos grupos ONT e CT, mostrando que o treinamento físico foi capaz de melhorar a glicemia dos animais que foram submetidos a dieta obesogênica materna. Pereira *et al.*, (2016), também observou redução do níveis de glicose em ratos hiperglicêmicos após 8 semanas de exercício aeróbico comparado aos animais sedentários.

O tipo, duração e intensidade do exercício físico determinam os efeitos produzidos sobre os mecanismos antioxidantes e os níveis de estresse oxidativo (TOFAS *et al.*, 2020). Evidências têm demonstrado que exercícios de intensidade leve a moderada induz o aumento da atividade de enzimas antioxidantes, diminuindo os níveis de EROs e melhorando o estado REDOX intracelular (RADAK *et al.*, 2008; STEINBACHER; ECKL, 2015). Os efeitos do treinamento físico sobre o balanço oxidativo no fígado de ratos submetidos a dieta obesogênica materna ainda são escassos na literatura. Porém, nosso estudo mostrou que 4 semanas de treinamento físico em esteira foi capaz de diminuir os níveis de TBARS nos grupos treinados (OT e CT) em relação aos grupos não treinados (ONT e CNT), mostrando efeito positivo do exercício sobre a peroxidação lipídica no fígado desses animais. Da Silva *et al.* (2009), também utilizou modelo experimental com roedores e observou que o programa de treinamento físico moderado em esteira durante 8 semanas foi capaz de diminuir os níveis de peroxidação lipídica no fígado, corroborando com os nossos resultados, além de aumentar a atividade enzimática da SOD. A redução dos níveis de peroxidação lipídica também foi observada no músculo esquelético de ratos jovens submetidos ao treinamento de natação durante 8 semanas (VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2013).

Os organismos vivos contam com sistemas de defesas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, que têm a capacidade de prevenir ou retardar a oxidação de macromoléculas, reduzindo ou cessando as reações oxidantes e removendo os radicais livres (ZOUFAN *et al.*, 2018). Nossos resultados mostraram que houve aumento da atividade da SOD e da GST no grupo OT comparado ao grupo ONT e CT, e aumento da atividade da catalase nos grupos treinados em relação aos grupos não treinados. Sugerimos que o nosso protocolo de treinamento físico atuou positivamente para melhoria do sistema antioxidante enzimático no fígado de ratos jovens que foram submetidos a dieta obesogênica materna, agindo contra o aumento da peroxidação de lipídeos, que pode ser decorrente do provável aumento da produção de EROs.

Outros trabalhos já observaram estresse oxidativo no fígado e no rim de roedores, além de aumento dos níveis de peroxidação lipídica e oxidação de proteínas, e redução dos níveis de sulfidrilas no plasma, após 6 semanas de dieta hiperlipídica (CHARRADI *et al.*, 2013; YIDA *et al.*, 2015). Estudos sobre o sistema antioxidante hepático relacionado com exercício em filhotes expostos a dieta obesogênica na gestação e lactação ainda são escassos na literatura. Alguns trabalhos observaram aumento da atividade da SOD e catalase e redução de MDA no músculo esquelético de ratos adultos que realizaram treinamento físico aeróbico (VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2013; LIMA, *et al.*, 2013). De Sousa *et al.* também demonstrou que o treinamento aeróbico aumentou a atividade de SOD, CAT e GST no fígado e músculo esquelético em camundongos.

O sistema antioxidante não enzimático conta com a atuação de moléculas como as glutatonas e os grupamentos sulfidrilas (grupos tióis). A GSH é a principal molécula reguladora não enzimática da homeostase redox intracelular, e existe na forma reduzida (GSH) ou oxidada (GSSG) participando das reações redox pela oxidação reversível de seu grupo tiol ativo (MASELLA *et al.*, 2005). Tióis contêm um grupo de cadeia lateral sulfidil (SH), atuam como antioxidantes, estabilizando os radicais livres ao aceitar seu elétron desemparelhado (MCLEAY *et al.*, 2017). Nesse estudo observamos que os níveis de GSH não foram significativos entre os grupos, mas houve aumento dos níveis de GSSG nos grupos (ONT e OT) comparados aos controles. O estado redox (razão GSH/GSSG) também não apresentou diferença estatística entre os grupos, mesmo com tendência a redução no grupo OT. Os níveis de grupamentos sulfidrilas foram menores nos grupos ONT e OT em relação aos grupos CNT e CT respectivamente. Ao contrário dos nossos resultados, outro estudo com treinamento aeróbico em esteira em roedores observou aumentos dos níveis de grupamentos sulfidrilas, dos níveis de GSH e do estado redox (GSH/GSSG) no fígado dos animais treinados (FERNANDES *et al.*, 2020). De acordo com Dean, (2002) uma proporção mais alta de GSH para GSSG sugere um ambiente redutor onde os níveis de EROs são mantidos em níveis homeostáticos, enquanto uma proporção baixa de GSH para GSSG é indicativa de estresse oxidativo (DEAN, 2002). Diante desses resultados, sugerimos que o treinamento físico moderado levou a uma tendência ao ambiente oxidante no grupo ONT e OT, visto que houve aumento da GSSG, mas não apresentou alterações significativas no estado redox hepático.

## 8 CONCLUSÃO

Nossos dados sugerem que a dieta obesogênica ofertada as mães durante a gestação e lactação induziu excesso de peso gestacional, levando ao aumento da adiposidade corporal e alterações nos parâmetros bioquímicos, além de diminuir a tolerância a glicose. Os efeitos da dieta materna repercutiu na saúde da prole causando aumento de peso e acúmulo de gordura corporal e alterações de fatores bioquímicos, no entanto o treinamento físico moderado foi capaz de minimizar esses efeitos.

Também foi observado que o treinamento físico moderado modulou de forma positiva os efeitos prejudiciais da dieta obesogênica perinatal sobre o balanço oxidativo hepático da prole. O protocolo de treinamento aeróbico utilizado neste estudo resultou em modificações favoráveis no tecido hepático, diminuindo a peroxidação lipídica e aumentando a atividade de enzimas antioxidantes. Dessa forma, sugerimos que o treinamento físico realizado pela prole atenuou o estresse oxidativo no fígado, melhorando os efeitos negativos causados pelo insulto nutricional durante períodos críticos do desenvolvimento.

## REFERÊNCIAS

- ADWAS, A. A. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. **Journal of Biotechnology**, New York, v.6, p. 43-47. Feb, 2019.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, New York, v. 105, p. 121-6, 1984.
- ACHTEN, J.; JEUKENDRUP, A. E Maximum fat oxidation during exercise in trained men. **Int J Sports Med**, New York, v. 24, p. 603-608. Nov, 2003.
- AIKEN, C. E. *et al.* Decreased ovarian reserve, dysregulation of mitochondrial biogenesis, and increased lipid peroxidation in female mouse offspring exposed to an obesogenic maternal diet. **Faseb J**, Bethesda, v.30, p.1548-1556. Apr, 2016.
- AKYOL, A.; MCMULLEN, S.; LANGLEY-EVANS, S.C. Glucose intolerance associated with early exposure to maternal food in the cafeteria depends on the post weaning diet. **British Journal of Nutrition**, New York, v.107, p. 964–978, Apr, 2012.
- ALFARADHI, M. Z. *et al.* Oxidative stress and altered lipid homeostasis in the programming of offspring fatty liver by maternal obesity. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, Bethesda, v. 307 p. 26–34. Jul, 2014.
- ALFARADHI, M. Z.; OZANNE, S.E. Developmental Programming in Response to Maternal Overnutrition. **Front Genet**, Lausanne, v.2, p. 1-27. Jun, 2011.
- ALVARADO-CRUZ, I. *et al.* Environmental Epigenetic Changes, as Risk Factors for the Development of Diseases in Children: A Systematic Review. **Ann Glob Health**, Philadelphia, v. 84, p.212-224, Jul. 2018.
- ARAÚJO, D. Polarização epidemiológica no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde. Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v.21, p.6. Dez, 2012.
- ASHINO, N. G. *et al.* Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver. **J Nutr Biochem**, Stoneham, v.23, p. 341–348. Apr, 2012.
- AUGER, C. *et al.* Dysfunctional mitochondrial bioenergetics and the pathogenesis of hepatic disorders. **Front Cell Dev Biol**, Lausanne, v. 3, p.40. Jun, 2015.
- BAEK, K. W.; GIM, J. A.; PARK, J. J. Regular moderate aerobic exercise improves high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease via monoacylglycerol *o*-acyltransferase 1 pathway suppression. **J Sport And Health Scien**, New York, v.8, p.1-7, Set, 2018.
- BALTACI, S. B.; MOGULKOC, R.; BALTACI, A.K. Resveratrol and exercise. **Biomed Rep**. v.5, p. 525–530. Nov, 2016.
- BARBANTI, V. J.; TRICOLI, V.; UGRINOWITSCH, C. Relevância do conhecimento científico na prática do treinamento físico. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v.18, p.101-9, Ago, 2004.

- BARKER, DJ. The origins of the theory of the origins of development. **J Intern Med**, Oxford, vol, 261, p. 412–17. May, 2007.
- BARRETT, E. J.; LIU, Z. Q. Endothelial cell: An "early response" in the development of insulin resistance. **Rev Endocr Metab Disord**, Boston, v. 14, p. 21 - 27. Mar, 2013.
- BATESON, P. *et al.* Developmental plasticity and human health. **Nature**, London, v. 430 p. 419-21. Jul, 2004.
- BAYOL, S.A.; FARRINGTON, S.J.; STICKLAND, N.C. A maternal junk food diet during pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for junk food and a greater propensity for obesity in the offspring of rats. **British Journal of Nutrition**, New York, v.98, p.843–851, Oct, 2007.
- BOYLE K. E.; *et al.* Gestational diabetes is characterized by reduced mitochondrial protein expression and altered calcium signaling proteins in skeletal muscle. **PLoS One**, United States, v.9 p. e106872. Set, 2014.
- BELEZA, J. D.; RIZO-ROCA, A.; ASCENSÃO, J. Magalhães Targeting mitochondria with sweat: improving mitochondrial function with physical activity. *Mitochondrial biology and experimental therapeutics*. **Springer**, New York, p. 379-406. Mar, 2018.
- BELLÓ-KEIN, A. *et al.* Submaximal exercise training in postnatal rats: Hemodynamic and oxidative stress changes. **Exp Clin Cardiol**, Bern-Switzerland, v. 5, p. 149-153, 2000.
- BENTO, A. *et al.* Portugal nutritional transition during the last 4 decades: 1974–2011. **Porto Biomed J.**, Barcelona, v. 3, p. 25. Dec, 2018.
- BIRBEN, E. *et al.* Oxidative Stress and Antioxidant Defense, **World Allergy Organ J**, Philadelphia, v.5, p. 9–19. Jan, 2012.
- BUGIANESI, E.; MCCULLOUGH, AJ.; MARCHESINI, G. Insulin Resistance: A Metabolic Pathway to Chronic Liver Disease. **Hepatology**, Baltimore, v.42, p. 987–1000. Nov, 2005.
- BURDGE, G. C.; LILLYCROP, K. A.; Nutrition, Epigenetics, and Developmental Plasticity: Implications for Understanding Human Disease. **Annu Rev Nutr.**, California, v.21, p. 315-39. Aug, 2010.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, Orlando, v. 72, p. 248-54, May 1976.
- BRAND, M. D. The sites and topology of mitochondrial superoxide production. **Exp Gerontol**, Oxford, v. 45, p. 466–72. Aug, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

- BRAZ, G. R. *et al.* Effect of moderate exercise on peritoneal neutrophils from juvenile rats. **Appl Physiol Nutr Metab**, Ottawa, v. 40, n. 9, p. 959-62, Sep 2015.
- BRETON, C. The hypothalamus-adipose axis is a key target of developmental programming by maternal nutritional manipulation. **J Endocrinol**, Bristol, v. 216, p.19-31. Jan, 2013.
- BRIAUD I. *et al.* Lipotoxicity of the pancreatic beta-cell is associated with glucose-dependent esterification of fatty acids into neutral lipids. **Diabetes**, United States, v.50, p. 315-21, Feb, 2001.
- BROOKS, G. A, WHITE, T. P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. **J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol**, Bethesda-Md, v. 45, n. 6, p. 1009-15, Dec 1978.
- BUEGE, J. A, AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, New York, v. 52, p. 302-10, 1978.
- BURDGE, G. C. *et al.* Epigenetic regulation of transcription: a mechanism for inducing variations in phenotype (fetal programming) by differences in nutrition during early life? **Br J Nutr**, New York, v. 97, p. 1036-46. Jan, 2007.
- CHIARATTI, M. R. *et al.* Maternal Transmission of Mitochondrial Diseases. **Genet Mol Biol**. Ribeirão Preto, v.43, p. 20190095. Mar, 2020.
- CRESCENZO, R. *et al.* Fructose supplementation worsens the deleterious effects of short-term high-fat feeding on hepatic steatosis and lipid metabolism in adult rats. **Exp. Physiol**, New York, v.99, p. 1203–1213. Set, 2014.
- CRESCENZO, R. *et al.* Qualidade da gordura influencia o efeito obesogênico de dietas ricas em gordura. **Nutrientes**, Switzerland, v. 7, p. 9475-9491. Nov, 2015.
- PALMA, R. K. *et al.* Behavior of vascular resistance undergoing various pressure insufflation and perfusion on decellularized lungs. **J. Biomech**, Oxford, v.49, p. 1230–1232. May, 2016.
- FARIA, J. A. *et al.* A post-weaning obesogenic diet exacerbates the detrimental effects of maternal obesity on offspring insulin signaling in adipose tissue. **Scientific reports**, London, v. 7, p. 44949. Mar, 2017.
- DESAI, M.*et al.* Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. **Am J Obstet Gynecol**, New York, v.211, p. 1-13. Sep, 2014.
- DICKINSON, D. A.; FORMAN, H.J. Glutathione na defesa e sinalização: lições de um pequeno tiol. **Ann NY Acad Sci**. New York, v.973, p. 488–504. Nov, 2002.
- DUDLEY, K. J. *et al.* Vickers Offspring of mothers fed a high fat diet display hepatic cell cycle inhibition and associated changes in gene expression and DNA methylation **PLoS One**, San Francisco, v.6, p. 21662. Jul, 2011.

EARNEST, C. P. *et al.* Maximal Estimated Cardiorespiratory Fitness, Cardiometabolic Risk Factors, and Metabolic Syndrome in the Aerobics Center Longitudinal Study. **Mayo Clin Proc**, Rochester, v.88, p. 259-70. Mar, 2013.

EBAL, E. *et al.* Effect of a moderate exercise on the regulatory hormones of food intake in rats. **Appetite**, London, v.49, p. 521-524. Sep, 2007.

ESPOSTI D. *et al.* Mitochondrial Roles and Cytoprotection in Chronic Liver Injury. **Biochem Res Int**, New York v. 2012, p. 387626. Jun, 2012.

FERNANDEZ-TWINN, D. S. *et al.* Downregulation of IRS-1 in adipose tissue of offspring of obese mice is programmed cell-autonomously through post-transcriptional mechanisms. **Mol Metab**, München, v.3, p. 325-33. Jan, 2014.

FERNANDEZ-TWINN, D.S. *et al.* Exercise rescues insulin sensitivity in obese mothers, placental hypoxia and insulin sensitivity in male children. **Sci Rep**, London, v. 7, p. 44650. Mar, 2017.

FERNANDEZ-TWINN, D. S. *et al.* The Programming of Cardiac Hypertrophy in the Offspring by Maternal Obesity Is Associated With Hyperinsulinemia, AKT, ERK, and mTOR Activation. **Endocrinology**, Los Angeles, v. 153, p. 5961-71. Dec, 2012.

FERRO CAVALCANTE, T. C. *et al.* Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids**, Chicago, v. 48, p. 1157-68, Nov 2013.

FLETCHER, J. A. *et al.* Fibroblast growth factor 21 and exercise-induced hepatic mitochondrial adaptations. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, Bethesda, v.310, p. G832-G843. May, 2016.

FRANCO, J. G. *et al.* Maternal High-Fat Diet Induces Obesity and Adrenal and Thyroid Dysfunction in Male Rat Offspring at Weaning. **J Physiol**, London, v.590, p. 5503-18. Nov, 2012.

FROVA, C. Glutathione Transferases in the Genomics Era: New Insights and Perspectives. **Biomol Eng**, New York, vol, 23, p. 149-169. Set, 2006.

GALLOWAY, C. A.; YOON, Y. Mitochondrial morphology in metabolic diseases. **Antioxid. Redox Signal**, Larchmont, v. 19, p. 415–430. Aug, 2013.

GEORGE, G. *et al.* The impact of exposure to the cafeteria diet during pregnancy or lactation on the growth of offspring and adiposity before weaning. **Sci Rep.**, New York, v. 9, p. 14173, Oct. 2019.

GIBALA, M. J. *et al.* Physiological adaptations to low-volume high-intensity interval training. **J Physiol**, London, v. 15, p. 1-6, 2015.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. **Plant Physiol Biochem**, Paris, v. 48, p. 909-930, dec. 2010.

GOMES, E. C.; SILVA, A.N.; OLIVEIRA, M.R. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. **Oxid. Med. Cell. Longev**, New York, v. 2012, p. 756132. Jun, 2012.

GOMES, R. M. *et al.* Maternal diet induced obesity during suckling period programs offspring obese phenotype and hypothalamic leptin/insulin resistance. **J Nutr Biochem**, Stoneham, v. 61, p.24-32. Nov, 2018.

GONÇALVES, I. O. *et al.* Physical exercise prevents and mitigates non-alcoholic steatohepatitis-induced liver mitochondrial structural and bioenergetics impairments. **Mitochondrion**, Amsterdam, v. 15, p. 40–51, Mar, 2014.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M.A. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. **Science**, New York, v. 305, p.1733–1736. Aug, 2004.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON M. A.; LOW, F. M. The role of developmental plasticity and epigenetics in human health. *Birth Defects Res. C Embryo Today*, Hoboken, v. 93, p. 12–18. Mar, 2011.

GLUCKMAN, P.D; HANSON, M.A; SPENCER, H.G. Respostas adaptativas preditivas e evolução humana . **Trends Ecol Evol**, Amsterdam, vol, 20, p. 527–33. Oct, 2005.

GUARDA, D. S. *et al.* Flaxseed oil during lactation changes milk and body composition in male and female suckling pups rats. **Food Chem Toxicol**, New York, v. 69, p. 69-75, Jul. 2014.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 249, n. 22, p. 7130-9, Nov 25 1974.

HARRIS, K. *et al.* The effects of prenatal metformin on obesogenic diet-induced alterations in maternal and fetal fatty acid metabolism. **Nutr Metab (Lond)**, London, v. 13, p.55. Aug, 2016.

HERMES, M. L. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In. John Wiley & Sons. **Functional Metabolism: Regulation and Adaptation**. Kenneth B. Storey, Brasilia, p. 319-368. May. 2004.

HISSIN, P. J.; HILF, R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Anal Biochem**, Orlando, v. 74, n. 1, p. 214-26, Jul 1976.

HOWIE, G. J. *et al.* Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. **J Physiol**, London, v. 587, p. 905-15. Fev, 2009.

HU, X. *et al.* Proteomic profile of carbonylated proteins in rat liver: Exercise attenuated oxidative stress may be involved in fatty liver improvement. **Proteomics**, Weinheim, v. 13, p.755–64. May, 2013.

JAMES, P. *et al.* Candidate Genes Linking Maternal Nutrient Exposure to Offspring Health via DNA Methylation: A Review of Existing Evidence in Humans With Specific Focus on One-Carbon Metabolism. **Int J Epidemiol**, London, v.47, p.1910–1937. Dec, 2018.

JIMÉNEZ-CHILLARÓN, J. C. *et al.* The Role of Nutrition on Epigenetic Modifications and Their Implications on Health. **Biochimie**, Paris, v.94, p. 2242-63. Nov, 2012.

VIEIRA JUNIOR, R. C. *et al.* Treinamento aeróbio de natação aumenta a atividade de enzimas antioxidantes e o conteúdo de glicogênio no musculoesquelético de ratos. **Rev Bras Med Esporte**, Weinheim, v. 19, p. 204-208. Mai/Jun, 2013.

KEATING, S. E. *et al.* Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. **J Hepatology**, Amsterdam, v. 63, p. 174–182. Jul, 2015.

KELEHER, M. R. *et al.* Maternal high-fat diet associated with altered gene expression, DNA methylation, and obesity risk in mouse offspring. **PLoS One**, San Francisco, v.13, p. 0192606. Feb, 2018.

KERELIUK, S. M. *et al.* Maternal Macronutrient Consumption and the Developmental Origins of Metabolic Disease in the Offspring. **Int J Mol Sc**, Basel, v.6, p.1451. Jul, 2017.

KIRK, S. L. *et al.* Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring. **PLoS ONE**, San Francisco, v.4, p. 1–13. Jun, 2009.

KOO, J. H.; KANG, E. B. Effects of treadmill exercise on the regulatory mechanisms of mitochondrial dynamics and oxidative stress in the brains of highfat diet fed rats. **J Exerc Nutrition Biochem**, Changwon, v. 23, p. 028-035. Mar, 2019.

KRASNOW, S. M.; NGUYEN, M. L. T.; MARKS, D. L. Increased maternal fat consumption during pregnancy alters body composition in neonatal mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, Bethesda, v.301, p. 1243-53. Dec, 2011.

LANGLEY-EVANS, S. C.; MCMULLEN, S. Developmental origins of adult disease. **Med Princ Pract**, New York, v.19, p. 87-98. Feb, 2010.

LAPHAM, A. S. *et al.* Epigenetic Approaches to Control Obesity. Ed. Epig. in Hum. **Disease**, United States, p. 297–320. Aug, 2012.

LEADDY, A.M; POWER, M.L; PDH, J.S Impact of maternal obesity on maternal and fetal health. **Rev Obstet Gynecol**, New York, vol, 1, p. 170–178. Oct, 2008.

LI, A. N. *et al.* Resources and biological activities of natural polyphenols. **Nutrients**, Basel, v.6, p. 6020-47. Dec, 2014.

LILLYCROP, K. A.; BURDGE, G. C. Epigenetic mechanisms that link early nutrition to long-term health. **Melhor Pract Res Clin Endocrinol Metab**, Amsterdam, v.26, p. 667-76. Abr, 2012.

LIMA, D. D. *et al.* Effects of Two Aerobic Exercise Training Protocols on Parameters of Oxidative Stress in the Blood and Liver of Obese Rats. **J Physiol Sci**, Tokyo, v.68, p. 699-706. Sep, 2018.

LIMA, F. D. *et al.* Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. **Plos One**, Spain, v. 8, p.55668. Feb, 2013.

LIRA, F. S. *et al.* Low and Moderate, Rather Than High Intensity Strength Exercise Induces Benefit Regarding Plasma Lipid Profile. **Diabetol Metab Syndr**, London, v.2, p.1-31. May, 2010.

LI, S.W. *et al.* A diet rich in maternal fat during pregnancy and lactation, in addition to a diet rich in postnatal fat, leads to metabolic syndrome with spatial learning and memory deficits: beneficial effects of resveratrol. **Oncotarget**, Albany, vol, 8, p. 111998–112013. Dez, 2017.

LI, S.W. *et al.* Assessment of Diet-Induced Obese Rats as an Obesity Model by Comparative Functional Genomics, Obesity, Silver Spring, v.16, p. 811–818. Jan, 2008.

LI, S.W. *et al.* The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. **Int J Mol Sci**, Switzerland, v. 16, p. 26087-124. Nov, 2015.

LOCHE, E. *et al.* Maternal diet-induced obesity programmes cardiac dysfunction in male mice independently of post-weaning diet. **Cardiovascular Research**, London, v.114, p. 1372–1384. Aug, 2018.

LI, X. D. *et al.* Effects of high intensity exhaustive exercise on SOD, MDA, and NO levels in rats with knee osteoarthritis. **Genet. Mol. Res**, Ribeirao Preto, v.14, p. 12367–12376. Oct, 2015.

LIU, X. *et al.* Chapter 30 - Hepatic Metabolism in Liver Health and Disease. **Liver Pathophysiology**, Mexico, v. 1, p. 391-400. Mar, 2017.

MAILLOUX, R. J.; LEMIRE, J.; APPANNA, V. D. Hepatic response to aluminum toxicity: dyslipidemia and liver diseases. **Exp. Cell Res**, New York, v. 317, p. 2231–2238. Oct, 2011.

MAMUN, M. A. A. *et al.* High Carbohydrate High Fat Diet Induced Hepatic Steatosis and Dyslipidemia Were Ameliorated by Psidium guajava Leaf Powder Supplementation in Rats. **Evid Based Complem Alternat Med**, New York, v. 3, p. 1897237. Feb, 2019.

MARQUES., C. M. M. *et al.* Beneficial effects of exercise training (treadmill) on insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in high-fat fed C57BL/6 mice. **Braz J Med Biol Res**, São Paulo, vol, 43. p. 467-475. May, 2010.

MARTINEZ, J. A. *et al.* Personalized weight loss strategies-the role of macronutrient distribution. **Nat. Rev. Endocrinol**. London, 10, 749–760. Dec, 2014.

MARTIN, L. J. *et al.* Mitochondrial Permeability Transition Pore Regulates Parkinson's Disease Development in Mutant  $\alpha$ -synuclein Transgenic Mice. **Neurobiol. Aging**, New York, v.35, p. 1132–1152. May, 2014.

METGES, C. C. Early nutrition and later obesity: animal models provide insights into mechanisms. **Adv Exp Med Biol**, New York, v. 646, p.105–112. Oct, 2009.

MIRANDA, R. A. *et al.* Maternal high-fat diet consumption induces sex-dependent alterations of the endocannabinoid system and redox homeostasis in liver of adult rat offspring. **Sci Rep**, New York, v. 8, p. 14751, Oct, 2018.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 247, p. 3170-5, May, 1972.

MOYCE, B. L.; DOLINSKY, V. W. Maternal  $\beta$ -Cell Adaptations in Pregnancy and Placental Signalling: Implications for Gestational Diabetes. **Int J Mol Sci.**, Basel, v.19, p. 3467, Nov, 2018.

MUSIAL, B. *et al.* A Western-style obesogenic diet alters maternal metabolic physiology with consequences for fetal nutrient acquisition in mice. **J Physiol**, Oxford, v.595, p. 4875-4892. Jul, 2017.

NIVOIT, P. *et al.* Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. **Diabetologia**, New York, v.52, p. 1133–1142. Mar, 2009.

OBEN, J. A. *et al.* Maternal obesity programmes offspring development of non-alcoholic fatty pancreas disease. **Biochem Biophys Res Commun**, New York, v.394, p. 24–8. Mar, 2010.

OHTA, T. *et al.* The maternal diet rich in fat promotes the onset of diabetes in children of rats. **Anim Sci J**, Amsterdam, v. 88, p. 149-155. May, 2017.

OLIVEIRA, T. W. S. *et al.* A Perinatal Palatable High-Fat Diet Increases Food Intake and Promotes Hypercholesterolemia in Adult Rats. **Lipids**. Chicago, v.46, p. 1071-4. Nov, 2011.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J Lab Clin Med.**, New York, v. 70, p. 158-169. Jul. 1967.

PALATIANOU, M. E. *et al.* Long-term Metabolic Effects of High Birth Weight: A Critical Review of the Literature. **Horm Metab Res**, Stuttgart, v, 46, p. 911–920. Dec, 2014.

PANCHAL, S. K. *et al.* High-carbohydrate high-fat diet–induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. **J Cardiovasc Pharmacol**, New York, v. 57, p. 610. May, 2011.

PERALTA, S. *et al.* Mitochondrial Diseases Part III: Therapeutic Interventions in Mouse Models of OXPHOS Deficiencies. **Mitochondrion**, Amsterdam, v. 23, p. 71-80. Jul, 2015.]

PEREZ, G. S. *et al.* Maternal and post-weaning exposure to a high fat diet promotes visceral obesity and hepatic steatosis in adult rats. **Nutr Hosp**. Madrid, v.32, p. 1653-8. Oct, 2015.

PIZZINO, G. *et al.* Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. **Oxid Med Cell Longev**, New York, v.2017, p. 1-13. Dec, 2017.

POPKIN, B. M.; ADAIR, L. S.; NG, S.W. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. **Nutr Rev**, Washington, v.70, p. 3-21. Jan, 2012.

POPKIN, B. M. Global Nutrition Dynamics: The World Is Shifting Rapidly Toward a Diet Linked With Noncommunicable Diseases. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v.84, p. 289-98. Aug, 2006.

RACHEK LI. Free fatty acids and skeletal muscle insulin resistance. **Prog Mol Biol Transl Sci.**, Amsterdam, v.121, p.267-92, Abr, 2014.

RADAK, Z.; CHUNG, H. Y.; GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radic. Biol. Med.** New York, v.44, p. 153–159. Jan, 2008.

RAHMATI, A. *et al.* High-intensity Interval Training Has a Greater Effect on Reverse Cholesterol Transport. **Eur J Prev Cardiol.** London, v.19, p. 204. Nov, 2019.

RAHMAN, M. M. *et al.* Cardamom powder supplementation prevents obesity, improves glucose intolerance, inflammation and oxidative stress in liver of high carbohydrate high fat diet induced obese rats. **Lipids Health Dis**, London, vol, 16, p. 151. Aug, 2017.

RIEDL, I. *et al.* Regulation of Skeletal Muscle Transcriptome in Elderly Men After 6 Weeks of Endurance Training at Lactate Threshold Intensity. **Exp Gerontol.** Tarrytown, v.45, p. 896-903. Nov, 2010.

RODRIGUES, B. *et al.* Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovasc Diabetol**, London, v. 6, p. 38, Dec 13 2007.

RUI, L. Energy metabolism in the liver. **Compr Physiol**, Bethesda, v.4, p. 177-97. Jan, 2014.

RUSZKIEWICZ, J.; ALBRECHT, J. Changes of the thioredoxin system, glutathione peroxidase activity and total antioxidant capacity in rat brain cortex during acute liver failure: modulation by L-histidine. **Neurochem Res**, New York, v. 40, n. 2, p. 293300. Feb 2015.

OBEN SHAPIRO, A. L. B. *et al.* Infant Adiposity is Independently Associated with a Maternal High Fat Diet but Not Related to Niacin Intake: The Healthy Start Study. **Matern Child Health J**, New York, v.21, p. 1–7. Aug, 2017.

SAMUELSSON A. M. *et al.* Diet-induced obesity in female mice leads to hyperphagia, adiposity, hypertension and insulin resistance in the offspring: a new murine model of developmental programming. **Hypertension**, Dallas, v. 51, p. 383-92. Fev, 2008.

SCHEFFER, D. L. *et al.* Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. **Appl Physiol Nutr Metab**, Ottawa, v. 37, p. 1239–1246. Dec, 2012.

- SINGH, S. P. *et al.* PGC-1 alpha regulates HO-1 expression, mitochondrial dynamics and biogenesis: Role of epoxyeicosatrienoic acid. **Prostagl Other Lipid Mediat**, New York, v.125, p. 8-18. Sep, 2016.
- SIES, H. Glutathione e seu papel nas funções celulares. **Radic livre Biol Med**. New York, v.27, p. 916-921. Nov, 1999.
- SHEERAN, F. L; PEPE S. Mitochondrial Bioenergetics and Dysfunction in Failing Heart. **Adv Exp Med Biol**, New York, v. 982, p. 65–80. Oct, 2017.
- SHEN, Y. *et al.* Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. **Obes Silver Spring**, Malden, v. 23, p.1000–1006. May, 2015.
- STEINBACHER, P.; ECKL, P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. **Biomolecules**, Basel, v.5, p. 356–377, Jun, 2015.
- TAYLOR, P.; SAMUELSSON, A. M.; POSTON, L. Maternal obesity and the developmental programming of hypertension: a role for leptin. **Acta Physiol**, Oxford, v. 210, p. 508-523. Mar. 2014.
- TEODORO, J. S.; PALMEIRA, C. M.; ROLO, A. P. Mitochondrial Membrane Potential ( $\Delta\Psi$ ) Fluctuations Associated with the Metabolic States of Mitochondria. **Methods Mol Biol**, Totowa, v. 1782, p. 109-119, May, 2018.
- TOFAS, T. *et al.* Exercise-Induced Regulation of Redox Status in Cardiovascular Diseases: The Role of Exercise Training and Detraining. **Antioxidants**, Basel, v.23 p.1-13. Dec, 2019.
- TREMBLAY, N. *et al.* Role of oxidative stress in seasonal and daily vertical migration of three krill species in the Gulf of California. **Limnol Oceanogr**, New York, v.55, p. 2570–2584. Nov, 2010.
- ULLA, A. *et al.* Supplementation of Syzygium cumini seed powder prevented obesity, glucose intolerance, hyperlipidemia and oxidative stress in high carbohydrate high fat diet induced obese rats. **BMC Complement Altern Med**, London , v. 17, p. 289. Jun, 2017.
- VIEAU, D. Perinatal nutritional programming of health and metabolic adult disease. **World J Diabetes**, Beijing, v.2, p. 133-136. Sep, 2011.
- WANG, N. *et al.* High-intensity Interval Versus Moderate-Intensity Continuous Training: Superior Metabolic Benefits in Diet-Induced Obesity Mice. **Life Sci**. Oxford, v.15, p. 122-131. Dec, 2017.
- WONG, S. K. *et al.* The Effects of a Modified High-carbohydrate High-fat Diet on Metabolic Syndrome Parameters in Male Rat. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, Heidelberg, v. 126, p. 205-212, Apr. 2018.

YANG, Z.; HUFFMAN, S. L. Nutrition in Pregnancy and Early Childhood and Associations With Obesity in Developing Countries. **Matern Child Nutr**, Oxford, v.9, p. 105–19, Jan. 2013.

ZAMBRANO, E. *et al.* Decreased basal insulin secretion of pancreatic islets from pups in a mouse model of maternal obesity. **J Endocrinol**, Bristol, v.231, p. 49-57, Oct. 2016.

ZHAO, R. Z. *et al.* Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). **Int J Mol Med**, Athens, v.44, p. 3-15, Jul. 2019.

ZOUFAN, P. *et al.* Oxidative Damage and Antioxidant Response in *Chenopodium murale* L. Exposed to Elevated Levels of Zn. **Braz. arch. biol. technol**, Curitiba, v.61, Oct. 2018.

## ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco  
 Centro de Biociências  
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
 50670-420 / Recife – PE – Brasil  
 Fones: 2126 8842  
 ceua@ufpe.br

Recife, 16 de outubro de 2019

Ofício nº 87/19

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

Para: **Prof. Mariana Pinheiro Fernandes**  
 Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão  
 Universidade Federal de Pernambuco  
 Processo nº0061/2019

Certificamos que a proposta intitulada "**Efeitos do treinamento físico moderado na bioenergética mitocondrial hepática e sistemas antioxidantes de ratos jovens submetidos a uma dieta obesogênica durante períodos críticos do desenvolvimento.**" registrado com o nº 0061/2019 sob a responsabilidade de **Prof. Mariana Pinheiro Fernandes** o 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 24/09/2019.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	novembro de 2019/ fevereiro de 2022
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	(Machos Progenitores: 4 animais) (Fêmeas Progenitoras: 16 animais) Filhotes Machos: 48 animais. Total de 68 ratos
Peso/Idade	190-220 g / 60 dias
Sexo	Machos ( 52) e Fêmea ( 16)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão, UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão, UFPE

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva  
 Vice-Presidente CEUA/UFPE  
 SIAPE 2345691



**APÊNDICE A - ARTIGO****ARTICLE TO BE SUBMITTED TO THE JOURNAL OF CELLULAR  
BIOCHEMISTRY - IMPACT FACTOR 4.237****EFFECTS OF MODERATE PHYSICAL TRAINING ON THE HEPATIC  
OXIDATIVE BALANCE OF YOUNG RATS SUBMITTED TO OBESOGENIC DIET  
DURING CRITICAL PERIODS OF DEVELOPMENT**

Gizele Santiago de Moura Silva<sup>1,2</sup>; Wellington de Almeida Oliveira<sup>1,2</sup>; Letícia da Silva Pachêco<sup>1,2</sup>; Talitta Ricarly Lopes de Arruda Lima<sup>1,3</sup>; José Winglinson de Oliveira Santos<sup>1,2</sup>; Ramon Nascimento da Silva<sup>1,3</sup>; Deisiane de Araújo Correia<sup>1</sup>, Diogo Antônio Alves de Vasconcelos<sup>2</sup>; Cláudia Jacques Lagranha<sup>1,2</sup>; Mariana Pinheiro Fernandes<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Biochemistry and Exercise Biochemistry, Department of Physical Education and Sports Science, Federal University of Pernambuco-CAV, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil

<sup>2</sup>Nutrition, Physical activity and Phenotypic plasticity graduate program, Federal University of Pernambuco-CAV, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil

<sup>3</sup>Nutrition graduate program, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

Running title: Effects of moderate exercise on the liver's offspring of mothers feeded with obesogenic diet.

**#Mailing address:**

Mariana Pinheiro Fernandes

Rua Alto do Reservatório, s/n – CEP: 55608-680 – Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte – Bela Vista – Vitória de Santo Antão, PE – Brasil.

Fone/Fax: (00 55 81) 35233351 E-mail: mariana.fernandes@ufpe.br

The authors declare that there is no conflict of interest.

## Abstract

This study aimed to evaluate the effects of moderate physical training on the hepatic oxidative balance of young rats submitted to an obesogenic diet during critical periods of development. Were divided the pregnant Wistar rats into a control group that received a Presence® bioterium diet and an obesogenic group, which received a high-fat diet plus condensed milk supplementation during pregnancy and lactation. At weaning, the male offspring received a vivarium diet and were divided into groups: Untrained Control (UC), Trained Control (TC), Untrained Obesogenic (UO), and Trained Obesogenic (TO). At 30 days of life, the TC and TO groups were submitted to a physical training program on a treadmill for 60 min/day, 5 days/week, 4 weeks, and at 50% of maximum capacity. Were euthanized all animals at 60 days of age. Was evaluate the food consumption, body weight, liver and adipose tissue weights, biochemical profile, levels of lipid peroxidation, the antioxidant activity of superoxide dismutase-SOD, catalase-CAT and glutathione-S-transferase-GST enzymes, non-enzymatic antioxidant activity, sulfhydryls levels, levels of GSH and GSSG, and REDOX state (ratio GSH/GSSG) in the offspring liver. Was used the ANOVA Two Way test and the results expressed as mean±SEM considering  $p < 0.05$ .

The offspring of obesogenic mothers had higher body weight at birth and weaning. During physical training, there was less food consumption in the trained groups. At 60 days of life, there was greater body weight, the weight of the liver and adipose tissue, and higher levels of glucose and total cholesterol in the UO group. Were reversed these effects in the TO group. There was a reduction in lipid peroxidation and increased activity of SOD, CAT, and GST in the trained groups. GSSG was increased in the UO and TO groups, with no change in the REDOX state. In conclusion, this study demonstrated the negative effects of the maternal obesogenic diet during critical periods of development on the hepatic oxidative balance of the offspring. However, moderate physical training was able to reverse many of these effects acting, as a non-pharmacological therapeutic agent.

**Keywords:** Antioxidant activity; obesogenic diet; liver; oxidative stress; physical exercise.

## Introduction

Changes in the pattern of food consumption and a reduction in the practice of physical activities converge to an increase in the prevalence of overweight and obesity. These are the main legacies of the nutritional transition that can aggravate and develop associated comorbidities (POPKIN, 2012; ARAÚJO, 2009; OMS, 2018). Nutrition during pregnancy is a contributing factor in the overweight/obesity ratio and metabolic diseases (YANG; HUFFMAN 2012). Exposure to specific environmental stimuli or insults during the early stages of life can cause permanent changes in the physiology of the human organism (GLUCKMAN; HANSON, 2004; GLUCKMAN *et al.*, 2011). Evidence has already shown that excess maternal nutrients can result in children, increased birth weight, obesity, and changes in metabolism (PALATIANOU *et al.*, 2014; ALFARADHI; OZANNE 2014).

Obesogenic diets are used in animal studies because they are similar to diets consumed by western humans occidentals (PANCHAL *et al.*, 2011; WONG *et al.*, 2018). Experimental studies with rodents using maternal obesogenic diet, with highly palatable and containing high sugar and saturated fats, found that their offspring had hyperphagia and insulin resistance at 60 days of life, in addition to developing obesity and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), at 90 days of life (SAMUELSSON, *et al.*, 2008; OBEN *et al.*, 2010; DE ALMEIDA FARIA *et al.*, 2017). The liver is vulnerable to perinatal changes, and the consumption of obesogenic diets in the early stages of life increases the susceptibility of the offspring to liver diseases (HARRIS *et al.*, 2016). The liver contains high amounts of mitochondria, and several diseases in this organ are related to mitochondrial defects and oxidative imbalances, such as fatty liver and DHGNA (ESPOSTI *et al.*, 2012; RUI, 2014; PERALTA *et al.*, 2015).

Mitochondria are the main sources of reactive oxygen species (ROS) production (ESPOSTI *et al.*, 2012). Excess ROS can lead to lipid peroxidation, oxidation in membrane molecules, and tissue damage (LI *et al.*, 2015). Antioxidant systems such as superoxide dismutase (SOD) enzymes, catalase, glutathione peroxidase, and reduced glutathione (GSH) levels are responsible for reducing excess ROS, preventing oxidative stress in cells (SINGH *et al.*, 2016). Consumption of obesogenic foods increases ROS formation and is associated with oxidative stress and mitochondrial dysfunction (SINGH *et al.*, 2016; KOO and KANG, 2019). Experimental studies with rats fed an obesogenic diet for 8 weeks showed increased levels of lipid peroxidation, decreased catalase activity, and SOD in liver tissue causing

oxidative stress (ULLA *et al.*, 2017; MAMUN *et al.*, 2019). 60-day-old mice from mothers fed an obesogenic diet showed increased markers of oxidative damage and mitochondrial dysfunction in the liver (ALFARADHI *et al.*, 2014).

Aerobic physical training of moderate-intensity has shown beneficial effects for the reduction of liver fat (KEATING *et al.*, 2015), improving the REDOX state of cells and tissues, and decreasing oxidative stress in adult rats (SCHEFFER *et al.*, 2012 ; KOO and KANG, 2019). The same type of exercise reduced body fat, improved the liver's antioxidant capacity and favored liver fat oxidation (GIBALA, 2015). Considering that maternal obesogenic diets predispose the development of liver oxidative stress and metabolic diseases in the offspring, should be proposed possible interventions to minimize these adverse effects. Moderate-intensity physical training is an important non-pharmacological therapeutic tool in the prevention of several metabolic disorders (SHEN *et al.*, 2015). Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of moderate physical training on the hepatic oxidative balance of young rats submitted to an obesogenic diet during critical periods of development. We hypothesize that moderate physical training improves the oxidative balance in the liver of young rats exposed to a maternal obesogenic diet.

## **Materials and Methods**

### **Ethical standards**

This project was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) of the Biosciences Center of UFPE (n° 0061/2019), following the rules of the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA).

### **Animals and Diet**

Rats of the species *Rattus norvegicus albinus*, of the *Wistar* lineage from the Physiology department of Federal University of Pernambuco were used, aged between 90 and 120 days, weighing between 220 and 250 g and nulliparous. The animals were kept in an experimental bioterium at the Academic Center of Vitória, Federal University of Pernambuco with a temperature of  $22^{\circ} \pm 2$ , light-dark cycle of 12/12 hours. The rats mated at the ratio of two females to one male and were used the vaginal smear to detect pregnancy (MARCONDES, BIANCHI e TANNO, 2002). After the detection of the pregnancies, the rats

were divided into Control group (C) (n = 8) that received a Presence® diet composed of 28.3% proteins, 10.9% lipids and 60.8% carbohydrates and the Obesogenic group (OB) (n = 8) that received a high-fat diet composed of the high content of saturated fatty acids, adapted from the study of Ferro Cavalcante *et al.*, (2013), with 31.99% of lipids, 20.18% protein, and 47.82% carbohydrate, plus condensed milk supplementation (Italac) (Corumbáiba, Brazil). Condensed milk was offered separately from the feed in a glass container installed in the cage. Was offered the diet during the pregnancy and lactation. Was adjusted to 8 the number of pups per mother on the first day of life. After the lactation period (21 days), the male puppies were separated and received a Presence® diet. After weaning, the animals were subdivided into four groups according to the practice or not of physical training: Untrained Control (UC); Trained Control (TC); Untrained Obesogenic (UO), and Trained Obesogenic (TO). The analysis occurred when the animals completed 60 days of life.

### **Physical training program**

The animals were submitted from the 26th to the 28th day of life to an incremental aerobic running test until fatigue to evaluate the performance of the animals with speed progression at 0.1 km/h every 3 minutes (BROOKS, 1978; RODRIGUES, 2007). Was defined fatigue as the point at which the animals did not maintain the treadmill rhythm for more than 10 seconds. Were transferred animals that managed to run longer during the incremental test to the trained group and those that ran less time to the untrained group. After 48 h of the incremental test, the 30-day-old animals in the TC and TO groups performed the physical training program on an Inbramed treadmill, a model for rats 9015.5.X, overnight using the following experimental protocol (60 min/day, 5 days/week, 4 weeks and 50% of the maximum capacity reached for the determined experimental groups). At each training week, the treadmill speed was adjusted according to the average speed of the animals in each trained group from the exercise test performed on Saturdays. The untrained groups remained in the cages and in the same environment and time as the animals in training (BELLÓ-KEIN *et al.*, 2000; BRAZ *et al.*, 2015).

### **Food consumption of offspring**

Was evaluated the food consumption of the offspring daily during the period of physical training, measured by the difference between the amount of feed offered and rejected. Was used

a precision digital electronic scale -Vonder, with a maximum capacity of 10 kg (GUIMARÃES *et al.*, 2017).

### **Body weight of offspring**

Were weighed all puppies after birth, at weaning (21 days old), and 60-days-old. Was used a precision digital scale - Mars, with a maximum capacity of 1010 g and weighing sensitivity of 0.01 g (CARVALHO *et al.*, 2013).

### **Collected the blood and tissues**

Were euthanized the animals the use of the guillotine. During the procedure, was collected blood for biochemical analysis, then the liver and abdominal (AAT) and visceral (AVT) adipose tissues and immediately weighed.

### **Assessment of blood glucose and total cholesterol of offspring**

Blood samples were collected during euthanasia and conditioned in tubes without anticoagulant, centrifuged at 3500 RPM for 10 minutes to obtain the serum. The supernatant was collected and transferred to an Eppendorf tube and sent for glucose, and total cholesterol analysis, using Labtest® colorimetric kits.

### **Preparation of liver tissue homogenate for use in biochemical techniques**

The hepatic tissue was homogenized in extraction buffer (50 mM Tris base, pH=7.4; 1 mM EDTA; 2 mM sodium orthovanadate; 2 mM PMSF). Then, the samples were centrifuged at 4000 RPM for 10 min at 4 °C and were quantified proteins in the supernatants.

### **Protein dosage**

Was determined the protein concentration of the liver homogenate by the method the Bradford *et al.* (1976) (BRADFORD, 1976). Was used a 2mg / mL solution of bovine serum albumin (BSA) as standard.

### **Levels of lipid peroxidation by the Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) methodology**

To measure TBARS has used the colorimetric technique of Buege and Aust (1978) (BUEGE and AUST, 1978). Were sequentially mixedThe samples (liver homogenate, 300 µg of protein)

mixed with 30% (w/v) trichloroacetic acid (TCA) and a 10 mM TRIS buffer, pH 7.4. The pink pigment produced was measured at 535 nm absorption using a visible spectrophotometer Biochrom Libra S12 (Biochrom, USA) at room temperature and expressed as mmol/mg of protein.

#### **Evaluation of the Superoxide Dismutase (SOD) enzyme activity**

Liver homogenate (80 µg of protein) was added to a 0.05 M carbonate buffer with 0.1 mM EDTA, pH 10.2. Was started the epinephrine reaction at 150mM and was determined SOD activity by the inhibition of adrenaline autoxidation at 30°C. Was monitored the decrease in absorbance using a Biochrom Libra S12 visible spectrophotometer (Biochrom, USA) for 1.5 min, at 480 nm, and the results expressed as U/mg protein. Was defined one unit of SOD as the amount of protein needed to inhibit the auto-oxidation of 1 µmol of epinephrine per minute. Was carried the SOD activity out according to the protocol developed by Misra and Fridovich. (1972) (MISRA and FRIDOVICH, 1972).

#### **Evaluation of the Catalase (CAT) enzyme activity**

Was performed the CAT activity described previously by Aebi (1984) (AEBI, 1984). The assay principle is based on the determination of the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decomposition constant k, which was defined as  $4.6 \times 10^7$ . Thus, 0.3M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was added to the sample (80 µg of protein), followed by the addition of phosphate buffer 50mM, pH 7.0, at 20 °C. The decay absorption was monitored for 4 min, at 240nm, in a spectrophotometer (Biochrom Libra S12 Visible, USA). Were expressed the results in U/mg of protein. Was defined a catalase unit was as the amount of protein required to convert 1µmol of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> into H<sub>2</sub>O by the minute.

#### **Evaluation of the activity of the enzyme Glutathione-S-Transferase (GST)**

The GST activity is directly proportional to the rate of formation of the DNP-SG (dinitrophenyl S glutathione) compound, which can therefore be measured by monitoring the rate of the compound formation. In a 1 mL quartz cuvette, was added the sample (80µg of protein) to the phosphate buffer (0.1M), EDTA (1mM), GSH (1mM), and CDNB (1mM). The absorbance (340 nm) was recorded for approximately 3 min with temperature control (30 °C) in a spectrophotometer (Biochrom Libra S12 Visible, USA) according to Habig *et al.*, 1974 (HABIG *et al.*, 1974). Were expressed the results in U/mg protein. Was defined a unit of GST enzyme activity as the amount needed to catalyze the formation of as

much as 1  $\mu$ mol of the DNP-SG compound per minute.

### **Evaluation of sulfhydryl-SH levels**

The sulfhydryl content was determined from the reaction with the compound DTNB (5,5'-dithiobis (2 nitrobenzoic acid) (ELLMAN, 1959). The homogenate (200  $\mu$ g of protein) was incubated in the dark after the addition of 10mM DTNB and the final volume was 1 mL, complete with pH 7.4 extraction buffer and the absorbance reading (30 °C) at 412 nm was performed on a spectrophotometer (Biochrom Libra S12 Visible, USA). The results were expressed in mmol/mg of protein.

### **Assessment of cellular REDOX state (GSH/GSSG ratio)**

To assess GSH levels, the samples (80  $\mu$ g of protein) were first diluted in 0.1 M phosphate buffer containing 5 mM EDTA, pH 8.0. Then, an aliquot of the diluted sample was incubated with o-Phthallialdehyde (OPT) at room temperature for 15 min. The fluorescence intensities were measured at 420 nm and excitation at 350 nm, in a spectrofluorimeter (FLUOStar Omega - BMG Labtech, USA), and compared with a standard curve of known concentrations of GSH (0.25-10 nM) also incubated with OPT. To determine GSSG levels, samples (80  $\mu$ g of protein) were incubated with 0.04 M N-ethylmaleimide for 30 min in room temperature, followed by the addition of 0.1 M NaOH buffer. The same steps of the GSH assay were followed to determine GSSG levels. The results of GSH and GSSG were expressed in  $\mu$ M/mg protein. The REDOX state was determined by the ratio of GSH/GSSG according to Hissin and Hilf method (1976) (HISSIN and HILF, 1976).

### **Statistical analysis**

Were presented the results as mean $\pm$ standard error of the mean. The ANOVA Two Way analysis of variance test was used to compare the data, followed by the TUKEY multiple comparisons post-test and the unpaired Student t test. Was maintained the level of significance 5% ( $p < 0.05$ ) for all analyses. Statistical analysis was performed using the GraphPad Prism program, version 8.0.2 for Windows.

## Results

### Bodyweight at birth, weaning, and 60 days of life and food consumption of offspring during the physical training program

The weights at birth and weaning were higher in the offspring of the OB mothers group when compared to offspring C group (Birth weight OB:  $8.188 \pm 0.1638$  g,  $n=16$  vs C:  $7.438 \pm 0.1281$  g,  $n=16$ ,  $p=0.0011$ ), (weaning weight OB:  $49.50 \pm 0.7012$  g,  $n=16$  vs offspring C:  $0.41.69 \pm 0.6753$  g,  $n=16$ ,  $p<0.0001$ ) (Figures 1A and 1B). Bodyweight at 60 days of life was decreased in the TO group when compared to the UO group (UO:  $203.0 \pm 5.38$  vs TO  $174.7 \pm 4.61$  g,  $p=0.0020$ ) and in the TC group compared to the UC group (UC:  $174.8 \pm 2.60$  vs TC:  $152.4 \pm 4.62$  g,  $p=0.0094$ ) and increased in the UO group compared to the UC group (UO:  $203.0 \pm 5.38$  vs UC:  $174.8 \pm 2.60$  g,  $p=0.0032$ ), in addition to the TO group when compared to the TC group (TC:  $152.4 \pm 4.62$  vs TO:  $174.7 \pm 4.61$  g,  $p=0.0063$ ) (Figure 1C).

It was verified that the consumption of proteins, lipids, carbohydrates and the total calories of the diet were lower during the total period of physical training in the trained groups compared to the untrained groups, Proteins (kcal) (TO:  $580.75 \pm 10.54$  vs UO:  $660.25 \pm 40.92$  kcal,  $p=0.034$ ; TC:  $591.00 \pm 20.44$  vs UC:  $669.79 \pm 25.01$  kcal,  $p=0.044$ ), Lipids (kcal) (TO:  $224.75 \pm 4.08$  vs UO:  $225.52 \pm 15.83$  kcal,  $p=0.034$ ; TC:  $229.10 \pm 7.91$  vs UC:  $259.21 \pm 9.68$  kcal,  $p=0.044$ ), Carbohydrates (kcal) (TO:  $1247.45 \pm 22.64$  vs UO:  $1418.52 \pm 87.89$  kcal,  $p=0.034$ ; TC:  $1271.62 \pm 43.91$  vs UC:  $1438.70 \pm 53.73$  kcal,  $p=0.044$ ), Total Calories (kcal) (TO:  $2052.95 \pm 37.26$  vs UO:  $2333.98 \pm 144.64$  kcal  $p=0.034$ ; TC:  $2092.72 \pm 72.26$  vs UC:  $2367.69 \pm 88.42$  kcal,  $p=0.044$ ) (Table 1).

### Liver and adipose tissue (abdominal and visceral) weights and biochemical profile of offspring

Liver weight was lower in the TO group when compared to the UO group (UO:  $12.31 \pm 0.36$  g vs OT:  $11.26 \pm 0.27$  g,  $p=0.0336$ ) and in the TC group compared to the UC group (UC:  $11.85 \pm 0.16$  vs TC:  $10.70 \pm 0.17$  g,  $p=0.0109$ ) (Figure 2A). AAT weight was lower in the TO group when compared to the UO group (UO:  $3.360 \pm 0.19$  vs TO:  $2.284 \pm 0.27$  g,  $p=0.0058$ ) and in the TC group compared to the UC group (UC:  $2.598 \pm 0.16$  vs TC:  $1.652 \pm 0.17$  g,  $p=0.0207$ ) (Figure 2B). VAT weight decreased in the TO group compared to the UO group (UO:  $2.639 \pm 0.06$  vs TO:  $2.191 \pm 0.07$  g,  $p=0.0169$ ) and was greater in the UO group when compared to the UC group (UC:  $2.103 \pm 0.11$  vs UO:  $2.639 \pm 0.06$  g,  $p=0.0026$ ) (Figure 2C).

Regarding the biochemical profile, it was observed that glucose levels were lower in the TO group when compared to the UO group and the TC group, (UO:  $166.2 \pm 10.61$  vs TO:  $125.8 \pm 5.63$  mg/dL,  $p=0.0008$ ; TC:  $150.0 \pm 3.79$  vs TO:  $125.8 \pm 5.63$  mg/dL,  $p=0.0342$ ) and the total cholesterol levels were lower in the TO group compared to the UO group (UO:  $75.70 \pm 5.04$  mg/dL vs TO:  $60.82 \pm 5.23$  mg/dL,  $p=0.0209$ ) without statistical difference between TC and UC groups (Figures 2D and 2E).

### **Oxidative stress biomarker and enzymatic antioxidant activity in the offspring liver**

Was observed a decrease in lipid peroxidation in the TO group compared to the UO group (UO:  $5.032 \pm 0.23$  vs TO:  $4.065 \pm 0.22$  mmol/mg protein,  $p=0.0409$ ) and in the TC group compared to the UC group (UC:  $5.595 \pm 0.19$  vs TC:  $4.260 \pm 0.32$  mmol/mg protein,  $p=0.0049$ ) (Figure 3A). There was an increase in SOD activity in the TO group compared to the UO group and the TC group (UO:  $159.2 \pm 13.89$  vs TO:  $220.1 \pm 12.82$  U/mg protein,  $p=0.0042$ ; TC:  $63.76 \pm 6.6$  vs TO:  $220.1 \pm 12.82$  U/mg of protein,  $p<0.0001$ ) and increased SOD activity in the UO group compared to the UC group (UO:  $159.2 \pm 13.89$  vs UC:  $78.61 \pm 7.10$  U/mg of protein,  $p=0.0006$ ) (Figure 3B). The CAT activity increased in the TO group compared to the UO group (UO:  $4.823 \pm 0.12$  vs TO:  $5.837 \pm 0.32$  U/mg protein,  $p=0.0300$ ), and in the TC group compared to the UC group (UC:  $4.403 \pm 0.0304$  vs TC:  $5.488 \pm 0.17$  U/mg protein,  $p=0.0240$ ) (Figure 3C). There was an increase in GST activity in the TO group when compared to the UO group and the TC group (UO:  $23.94 \pm 0.33$  vs TO:  $27.82 \pm 0.52$  U/ mg protein,  $p=0.0472$ ; TO:  $27.82 \pm 0.52$  vs TC:  $23.34 \pm 1.00$  U/mg of protein,  $p=0.0267$ ) (Figure 3D).

### **Non-enzymatic antioxidant activity in the offspring liver**

The sulfhydryl (-SH) levels were lower in the TO group compared to the TC group (TC:  $0.1008 \pm 0.001$  vs TO:  $0.0565 \pm 0.005$  mmol/mg protein,  $p<0.0001$ ) and lower in the UO group compared to the UC group (UC:  $0.0910 \pm 0.003$  vs UO:  $0.0483 \pm 0.002$  mmol/mg protein,  $p<0.0001$ ) (Figure 4A). GSH levels showed no statistical difference between groups, but GSSG levels increased in the TO group compared to the TC (TC:  $11.42 \pm 0.52$  vs TO:  $18.54 \pm 0.65$   $\mu$ M/mg protein,  $p<0.0001$ ) and in the UO group compared to the UC group (UC:  $11.13 \pm 0.48$  vs UO:  $15.9 \pm 1.32$   $\mu$ M/mg protein,  $p=0.0006$ ) (Figures 4B and 4C). Regarding the cellular REDOX state (GSH/GSSG ratio) there was no statistical difference between the groups (Figure 4D).

## Discussion

This study aimed to evaluate the effects of moderate physical training on the hepatic oxidative balance of young rats submitted to an obesogenic diet during critical periods of development. Our results showed that the bodyweight of the offspring at birth and weaning was higher in the offspring of mothers from the OB group compared to the offspring of the C mothers group. Similar results showed that rodent pups submitted to the maternal obesogenic diet increased body adiposity, birth weight (ASHINO *et al.*, 2012; KRASNOW *et al.*, 2011), and weaning weight about pups from control mothers (FRANCO *et al.*, 2012; LOCHE *et al.*, 2018). The offspring body weight in the UO group remained increased at 60 days of life, but the physical training reduced the body and TAA weights in the groups (TC and TO), compared to the untrained groups, in addition to decreasing the TAV weight in the TO group. These findings corroborate with other studies in which body weight increase was observed, with a reduction in the adipose tissue of obese rats, after 8 weeks of physical training on a treadmill (WANG *et al.*, 2017; RAHMATI-AHMADABAD *et al.*, 2019). During aerobic training of moderate intensity, the predominant energy demand is the oxidation of fatty acids, which increases lipolysis in adipose tissue to maintain exercise for a longer period, reducing fat mass (ACHTEN; JEUKENDRUP, 2003). Liver weight was also lower in the trained groups compared to the untrained groups. A possible explanation for this would be the decrease in the amount of liver fat since physical exercise increases the oxidation metabolism of fatty acids and reduces the number of fat adipocytes in this organ (MARQUES *et al.*, 2010; KEATING *et al.*, 2015).

We verified that the food consumption in kcal was reduced in the trained groups compared to the untrained groups, indicating that physical exercise-induced a lower food intake in the animals. Corroborating our findings, a recently published study, using a 4-week protocol of physical training on a treadmill with male and female rats, investigated the animals' food intake during training and observed that trained male rats had lower caloric intake compared to sedentary ones, while trained females had a higher calorie intake compared to sedentary group (FORIGHT *et al.*, 2020). The reduction of food intake during moderate physical training in rats was also demonstrated by Ebal *et al.* (2007) where it was observed that weight loss was not only related to energy expenditure increase, but also to a reduction of food intake (EBAL *et al.*, 2007).

Was increased total cholesterol in the UO group. This result is similar to studies that used a maternal westernized diet, as a model, at 60 days (PEREZ *et al.*, 2015) and 100 days of life (OLIVEIRA *et al.*, 2011). However, the TO group showed total cholesterol reduced levels at the end of the physical training, showing the aerobic exercise effectiveness for the lipid profile of the trained animals. During moderate physical exercise, our results suggest that occurs an increase in the ability of skeletal muscles to use lipids instead of glycogen for energy production, thus reducing the plasma lipid levels (EARNEST *et al.*, 2013). The removal of cholesterol from the bloodstream can be explained by the process known as 'reverse cholesterol transport' which occurs during acute and chronic aerobic exercises (RIEDL *et al.*, 2010; LIRA *et al.*, 2010). Glucose levels were lower in the TO group, compared to the UO and TC groups, indicating that physical training was able to improve the glycemia of animals submitted to a maternal obesogenic diet. Pereira *et al.* (2016), also observed a reduction in glucose levels in hyperglycemic rats after 8 weeks of aerobic exercise compared to sedentary animals (PEREIRA *et al.*, 2016).

The type, duration, and intensity of the physical exercise determine the effects produced on antioxidant mechanisms and oxidative stress levels (TOFAS *et al.*, 2020). Evidence has shown that exercise of light to moderate intensity induces an increase in antioxidant enzymes activity, decreasing ROS levels and improving the intracellular REDOX state (RADAK *et al.*, 2008; STEINBACHER; ECKL, 2015). The effects of physical training on the oxidative balance of the rats liver submitted to maternal obesogenic diet are still scarce in the literature. However, our study showed that 4 weeks of treadmill physical training was able to decrease TBARS levels in the training groups (TO and TC) compared to the untrained groups (UO and UC), showing a beneficial effect of exercise on decreased lipid peroxidation in the liver of these animals. Was observed in a study carried out by Da Silva *et al.* (2009) using rodents as an experimental model that a moderate exercise training program on a treadmill for 8 weeks was able to decrease the levels of lipid peroxidation in the liver, corroborating our results, in addition to increasing SOD activity. Was also observed the reduction in MDA (PEROXIDAÇÃO) levels in the skeletal muscle of young rats submitted to swimming training for 8 weeks (VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2013).

Living organisms have enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems, which can prevent or delay the macromolecules oxidation, reducing or ceasing oxidative reactions, and removing free radicals (ZOUFAN *et al.*, 2018). Our results showed an increase

in SOD and GST activity in the OT group compared to the UO and TC group and an increase in catalase activity in the trained groups compared to the untrained groups. We suggest that the physical training protocol used in this study acted positively to improve the activity of the enzymatic antioxidant system in the liver of young rats that were submitted to maternal obesogenic diet, decreasing the lipid peroxidation, probably as a response to ROS production increased. In previous studies, it has already been observed oxidative stress in the liver and kidney of rodents, in addition to increased MDA levels and protein oxidation and plasmatic sulfhydryl reduced levels after 6 weeks of a high-fat diet (CHARRADI *et al.*, 2013; YIDA *et al.*, 2015). Studies of the hepatic antioxidant system related to exercise in offspring exposed to an obesogenic diet during pregnancy and lactation are still scarce in the literature. Some studies have observed increased SOD and catalase activity and reduced MDA levels in the skeletal muscle of adult rats that underwent aerobic physical training (VIEIRA JÚNIOR *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2013). In the study of De Sousa *et al.* 2010, it also demonstrated that aerobic training increased the SOD, CAT and GST activities in the liver and skeletal muscle of mice (DE SOUZA *et al.*, 2010).

The non-enzymatic antioxidant system relies on the performance of molecules such as glutathione and sulfhydryl groups (thiol groups). GSH is the main non-enzymatic regulatory molecule of intracellular REDOX homeostasis and exists in reduced (GSH) or oxidized (GSSG) forms participating in REDOX reactions by the reversible oxidation of its active thiol group (MASELLA *et al.*, 2005). Thiols contain a sulfhydryl side chain (SH) group, which acts as antioxidants, stabilizing free radicals by accepting their unpaired electron (MCLEAY, Y *et al.*, 2017). In this study, we observed that GSH levels were not significant between groups, but there was an increase of GSSG levels in the obesogenic groups (UO and TO). The sulfhydryl groups levels were lower in the offspring that received maternal obesogenic diet (UO and TO groups) when compared to their controls, regardless of the used exercise protocol. Contrary to our results, another study with aerobic training on a treadmill in rodents observed increases from levels sulfhydryl, GSH levels, and REDOX state (GSH/GSSG ratio) in the liver of trained animals (FERNANDES *et al.*, 2020). According to Dean (2002), a higher proportion of GSH to GSSG suggests a reducing environment where the ROS levels are maintained at homeostatic levels, while a low GSH and GSSG proportion indicates oxidative stress (DEAN, 2002).

Therefore, we suggest that the moderate physical training was efficient for the offspring health exposed to an obesogenic diet during pregnancy and lactation, minimizing metabolic and

biochemical aspects affected by the maternal diet. In addition, aerobic training was beneficial for the hepatic oxidative balance of the offspring, reducing lipid peroxidation and improving the enzymatic antioxidant system activity. Thus, we suggest physical training as a possible non-pharmacological tool for the treatment of metabolic dysfunctions, which can contribute to public health and the people's quality of life subjected to nutritional insults during critical periods of development.

## References

Achten, J, & Jeukendrup, A. (2003) E Maximum fat oxidation during exercise in trained men. *Int J Sports Med*, 24, 603-608. Doi: 10.1055/s-2003-43265.

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121–126. Doi: 10.1016/s0076-6879(84)05016-3

Alfaradhi, MZ.; *et al.* (2014). Oxidative stress and altered lipid homeostasis in the programming of offspring fatty liver by maternal obesity. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 307, R26–R34. Doi: 10.1152/ajpregu.00049.2014

Ashino, NG.; *et al.* (2012). Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver. *J Nutr Biochem*, 23, 341–348. DOI: 10.1016 / j.jnutbio.2010.12.011

Araujo, GG.; *et al.* (2009). Máxima Fase estável de lactato em ratos obesos de ambos os gêneros. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 15, 46-49. Doi: 10.1590/S1517-86922009000100010

Babior, BM. (1997). Superoxide: a two-edged sword. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30, 141-155. Doi: 10.1590/S0100-879X1997000200001

Belló-kein, A.; *et al.* (2000). Submaximal exercise training in postnatal rats: Hemodynamic and oxidative stress changes. *Exp Clin Cardiol, Bern-Switzerland*, 5, 149-153.

Braz, GR.; *et al.* (2015). Effect of moderate exercise on peritoneal neutrophils from juvenile rats. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*, 40, 959–962. Doi: 10.1139/apnm-2015-0056

Bradford, MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248–254. Doi: 10.1006/abio.1976.9999

Buege, JA, & Aust, SD. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 52, 302–310. Doi: 10.1016/s0076-6879(78)52032-6

Brooks, GA, & White, TP. (1978). Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*, 45, 1009–1015. Doi: 10.1152/jappl.1978.45.6.1009

Carvalho, MF; Costa, MKME; Muniz, GS; Castro, RM; Nascimento, E. Experimental diet based on the foods listed in the Family Budget Survey is more detrimental to growth than to the reflex development of rats. *Rev. Nutr.*, 26 (2013). doi:10.1590/S1415-52732013000200006

Charradi, K.; *et al.* (2013). The high-fat diet induced oxidative stress in white adipose tissue and disturbed the plasma transition metals in rats: prevention by grape seeds and skin extract. *J Physiol Sci*, 63, 445–455. DOI: 10.1007 / s12576-013-0283-6

Da Silva, LA.; *et al.* (2009). Effect of different models of physical exercise on oxidative stress markers in mouse liver. *Applied physiology, nutrition, and metabolism= Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*, Ottawa, 34, 60–65. Doi: 10.1139/H08-132

De Almeida Faria, J.; *et al.* (2017). A post-weaning obesogenic diet exacerbates the detrimental effects of maternal obesity on offspring insulin signaling in adipose tissue. *Scientific reports*, 7, 44949. Doi: 10.1038/srep44949

Dean, PJ. (2002). Redox potential of the GSH / GSSG pair: assay and biological significance. *Métodos Enzymol*, 348: 93-112. Doi: 10.1016 / s0076-6879 (02) 48630-2.

De Souza, CT.; *et al.* (2010). Acute exercise reduces hepatic glucose production by inhibiting the Foxo1/HNF-4alpha pathway in insulin-resistant mice. *J Physiol*, 588, 2239–53. Doi: 10.1113 / jphysiol.2009.183996

Earnest, CP.; *et al.* (2013). Maximal Estimated Cardiorespiratory Fitness, Cardiometabolic Risk Factors, and Metabolic Syndrome in the Aerobics Center Longitudinal Study. *Mayo Clin Proc*, 88, 259-70. DOI: 10.1016 / j.mayocp.2012.11.006

Esposti, D.; *et al.* (2012). Mitochondrial roles and cytoprotection in chronic liver injury. *Biochemistry research international*, 387626. Doi.org/10.1155/2012/387626

Ebal, E.; *et al.* (2007). Effect of a moderate exercise on the regulatory hormones of food intake in rats. *Appetite*, 49, 521–524. Doi: 10.1016/j.appet.2007.03.007

Ellman, GL. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, New York, 82, 70-7. DOI: 10.1016 / 0003-9861 (59) 90090-6

Fernandes, MSS.; *et al.* (2020). Aerobic Exercise Training Exerts Beneficial Effects Upon Oxidative Metabolism and Non-Enzymatic Antioxidant Defense in the Liver of Leptin Deficiency Mice. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 11, 588502. Doi: 10.3389 / fendo.2020.588502

Fernandez-twin, DS.; *et al.* (2014). Downregulation of IRS-1 in adipose tissue of offspring of obese mice is programmed cell-autonomously through post-transcriptional mechanisms. *Molecular metabolism*, 3, 325–333. Doi: 10.1016/j.molmet.2014.01.007

Ferro Cavalcante, TC.; *et al.* (2013). Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. *Lipids*, 48, 1157–1168. Doi: 10.1007/s11745-013-3833-z

Foright, RM.; *et al.* (2020). Compensatory eating behaviors in male and female rats in response to exercise training. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 319, 171–183. Doi: 10.1152/ajpregu.00259.2019

Franco, JG.; *et al.* (2012). Maternal High-Fat Diet Induces Obesity and Adrenal and Thyroid Dysfunction in Male Rat Offspring at Weaning. *J Physiol*, 590, 5503-18. DOI: 10.1113 / jphysiol.2012.240655

Gibala, MJ.; *et al.* (2015) Physiological adaptations to low-volume high-intensity interval training. *J Physiol*, 15, 1-6. Doi: 10.1113/jphysiol.2011.224725

Gluckman, PD, & Hanson, MA. (2004). Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science*, 305, 1733–1736. DOI: 10.1126 / science.1095292

Gluckman, PD.; Hanson MA.; Low, FM. (2011). The role of developmental plasticity and epigenetics in human health. *Birth Defects Res. C Embryo Today*, 93, 12–18. DOI: 10.1002 / bdr.20198

Guimarães KSL, de Araújo EV, Aquino JS, Gadelha DA, Balarini CM, *et al.* Effect of maternal dyslipidaemia on the cardiorespiratory physiology and biochemical parameters in male rat offspring. *Br J Nutr.*, 118 (2017) p.930-941. doi: 10.1017/S0007114517003014

Habig, WH., Pabst, MJ, & Jakoby, WB. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of biological chemistry*, 249, 7130–7139

Harris, K.; *et al.* (2016). The effects of prenatal metformin on obesogenic diet-induced alterations in maternal and fetal fatty acid metabolism. *Nutr Metab (Lond)*, 13, 55. doi:10.1186 / s12986-016-0115-9

Hissin, PJ., & Hilf, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical biochemistry*, 74, 214–226. Doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2

Hu, X.; *et al.* (2013). Proteomic profile of carbonylated proteins in rat liver: exercise attenuated oxidative stress may be involved in fatty liver improvement. *Proteomics*, 13, 1755–1764. Doi: 10.1002/pmic.201200522

Junior, RCV.; *et al.* (2013). Treinamento aeróbio de natação aumenta a atividade de enzimas antioxidantes e o conteúdo de glicogênio no musculoesquelético de ratos. *Rev Bras Med Esporte, Weinheim*, v. 19, p. 204-208.

Keating, SE.; *et al.* (2015). Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. *Journal of hepatology, Amsterdam*, 63, 174–182. Doi: 10.1016/j.jhep.2015.02.022

Koo, JH, & Kang, EB. (2019). Effects of treadmill exercise on the regulatory mechanisms of mitochondrial dynamics and oxidative stress in the brains of high-fat diet fed rats. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*, 23, 28–35. Doi: 10.20463/jenb.2019.0005

Krasnow, SM; Nguyen, MLT; Marks, DL. (2011). Increased maternal fat consumption during pregnancy alters body composition in neonatal mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 301, 1243-53. DOI: 10.1152 / ajpendo.00261.2011

Lima, FD.; *et al.* (2013). Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. *PloS one*, 8, 55668. doi: 10.1371/journal.pone.0055668

Lira, FS.; *et al.* (2010). Low and Moderate, Rather Than High Intensity Strength Exercise Induces Benefit Regarding Plasma Lipid Profile. *Diabetol Metab Syndr*, 2, 1-31. Doi: 10.1186 / 1758-5996-2-31

Li, AN.; *et al.* (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6, 6020-47. DOI: 10.3390 / nu6126020

Loche, E.; *et al.* (2018). Maternal diet-induced obesity programmes cardiac dysfunction in male mice independently of post-weaning diet. *Cardiovascular Research*, 114, 1372–1384. Doi: 10.1093 / cvr / cvy082

Mamun, MAA.; *et al.* (2019). High Carbohydrate High Fat Diet Induced Hepatic Steatosis and Dyslipidemia Were Ameliorated by Psidium guajava Leaf Powder Supplementation in Rats. *Evid Based Complem Alternat Med*, 3, 1897237. Doi: 10.1155/2019/1897237

Masella, R.; *et al.* (2005). Novos mecanismos de compostos antioxidantes naturais em sistemas biológicos: envolvimento de glutatona e enzimas relacionadas com a glutatona. *J Nutr Biochem*, 16, 577-586. Doi: 10.1016/j.jnutbio.2005.05.013

Marques, CMM; *et al.* (2010). Beneficial effects of exercise training (treadmill) on insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in high-fat fed C57BL/6 mice. *Braz J Med Biol Res*, São Paulo, 43. 467-475. Doi: 10.1590/S0100-879X2010007500030

Mcleay, Y.; *et al.* (2017). Tióis dietéticos no exercício: defesa ao estresse oxidativo, desempenho no exercício e adaptação. *J Int Soc Sports Nutr*, 14, 12. Doi: 10.1186/s12970-017-0168-9

Misra, HP, & Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *The Journal of biological chemistry*, 247, 3170–3175.

Oben, JA.; *et al.* (2010). Maternal obesity programmes offspring development of non-alcoholic fatty pancreas disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 394, 24–8. DOI: 10.1016 / j.bbrc.2010.02.057

Oliveira, TWS.; *et al.* (2011). A Perinatal Palatable High-Fat Diet Increases Food Intake and Promotes Hypercholesterolemia in Adult Rats. *Lipids*, 46, 1071-4. DOI: 10.1007 / s11745-011-3604-7

Palatianou, ME.; *et al.* (2014). Long-term metabolic effects of high birth weight: a critical review of the literature. *Hormone and metabolic research = Hormon- und*

Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme, Stuttgart, 46, 911–920. Doi: 10.1055/s-0034-1395561

Panchal, SK.; *et al.* (2011). High-carbohydrate high-fat diet–induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 57, 51–64. Doi: 10.1097/FJC.0b013e3181feb90a

Peralta, S.; *et al.* (2015). Mitochondrial Diseases Part III: Therapeutic interventions in mouse models of OXPHOS deficiencies. *Mitochondrion*, 23, 71–80. Doi: 10.1016/j.mito.2015.01.007

Pereira, AS.; *et al.* (2016). Influence of aerobic exercise training on serum markers of oxidative stress in diabetic rats. *Journal Of Physical Education*, 27, 2726. Doi: 10.4025/jphyseduc.v27i1.2726

Perez, GS.; *et al.* (2015). Maternal and post-weaning exposure to a high fat diet promotes visceral obesity and hepatic steatosis in adult RATS. *Nutricion hospitalaria*, 32, 1653–1658. Doi: 10.3305/nh.2015.32.4.9607

Popkin, BM; Adair, LS; & NG, S. W. (2012). Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. *Nutrition reviews*, 70, 3–21. DOI: 10.1111 / j.1753-4887.2011.00456.x

Popkin, BM. (2001). Nutrition in transition: the changing global nutrition challenge. *Asia Pac J Clin Nutr*, Melbourne, 10, 13-8.

Rahmati, A.; *et al.* (2019). High-intensity Interval Training Has a Greater Effect on Reverse Cholesterol Transport. *Eur J Prev Cardiol*. 9, 204. DOI: 10.1177 / 2047487319887828

Radak, Z; Chung, HY; Goto, S. (2008). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic. Biol. Med*, 44, 153–159. DOI: 10.1016 / j.freeradbiomed.2007.01.029

Riedl, I.; *et al.* (2010). Regulation of Skeletal Muscle Transcriptome in Elderly Men After 6 Weeks of Endurance Training at Lactate Threshold Intensity. *Exp Gerontol*, 45, 896-903. DOI: 10.1016 / j.exger.2010.08.014

Rodrigues, B.; *et al.* (2007). Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovascular diabetology*, 6, 38. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-6-38>

Rui, L. (2014). Energy metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*, 4, 177–197. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024>

Scheffer, D. L.; *et al.* (2012). Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Appl Physiol Nutr Metab*, 37, 1239–1246. DOI: 10.1139 / h2012-115

Shen, Y.; *et al.* (2015). Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. *Obes Silver Spring*, 23, 1000–1006. DOI: 10.1002 / oby.21056

Singh, S. P.; *et al.* (2016). PGC-1 alpha regulates HO-1 expression, mitochondrial dynamics and biogenesis: Role of epoxyeicosatrienoic acid. *Prostagl Other Lipid Mediat*, 125, 8-18. DOI: 10.1016 / j.prostaglandins.2016.07.004

Steinbacher, P. & Eckl, P. (2015). Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, 5, 356–377. DOI: 10.3390 / biom5020356

Tofas, T.; *et al.* (2019). Exercise-Induced Regulation of Redox Status in Cardiovascular Diseases: The Role of Exercise Training and Detraining. *Antioxidants*, 23, 1-13. doi: 10.3390 / antioxidants9010013

Ulla, A.; *et al.* (2017). Supplementation of *Syzygium cumini* seed powder prevented obesity, glucose intolerance, hyperlipidemia and oxidative stress in high carbohydrate high fat diet induced obese rats. *BMC Complement Altern Med*, 17, 289. DOI: 10.1186 / s12906-017-1799-8

Wang, N.; *et al.* ( 2017). High-intensity Interval Versus Moderate-Intensity Continuous Training: Superior Metabolic Benefits in Diet-Induced Obesity Mice. *Life Sci*. 15, 122-131. DOI: 10.1016 / j.lfs.2017.08.023

WHO. World Health Organization. (2018). ACTIVE: a technical package for increasing physical activity. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275415>

Wong, S. K.; *et al.* (2018). The Effects of a Modified High-carbohydrate High-fat Diet on Metabolic Syndrome Parameters in Male Rats. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 126, 205–212. <https://doi.org/10.1055/s-0043-119352>

Yang, Z. & Huffman, S. L. (2013). Nutrition in Pregnancy and Early Childhood and Associations With Obesity in Developing Countries. *Matern Child Nutr*, 9, 105–19. DOI: 10.1111 / mcn.12010.

Yida, Z.; *et al.* (2015). Inflammation induced by a high-fat diet and oxidative stress are alleviated by N-acetylneuramine acid in rats. *J Biomed Sci*, 22, 96. DOI: 10.1186/s12929-015-0211-6.

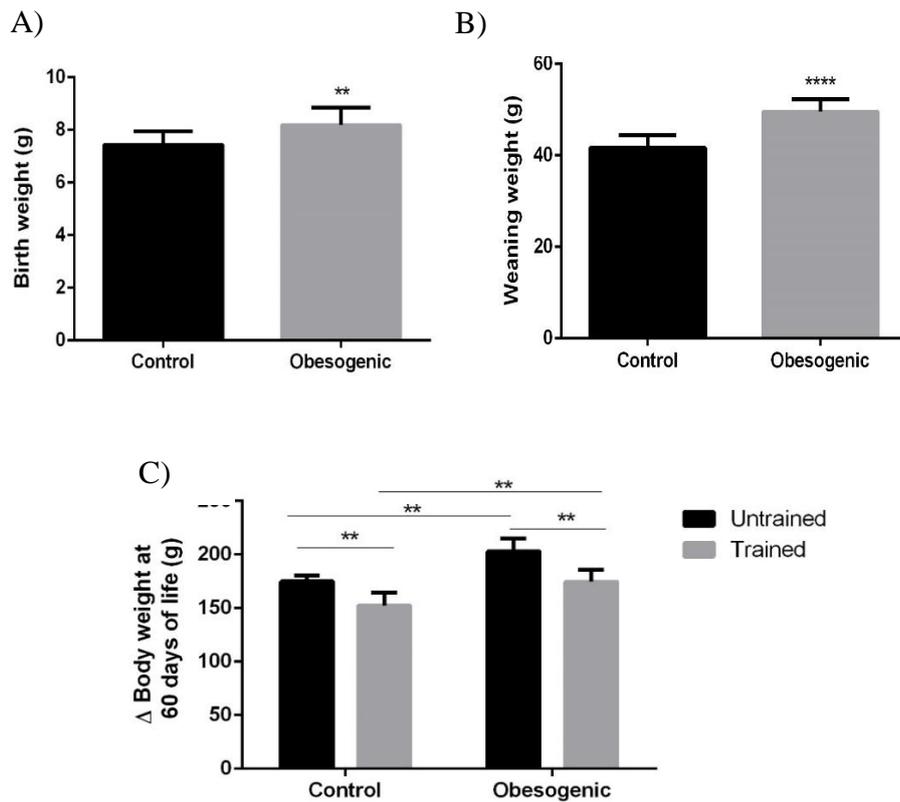
## Table

**Table 1.** Food consumption during physical training in kilocalories (kcal) per week and by dietary macronutrients.

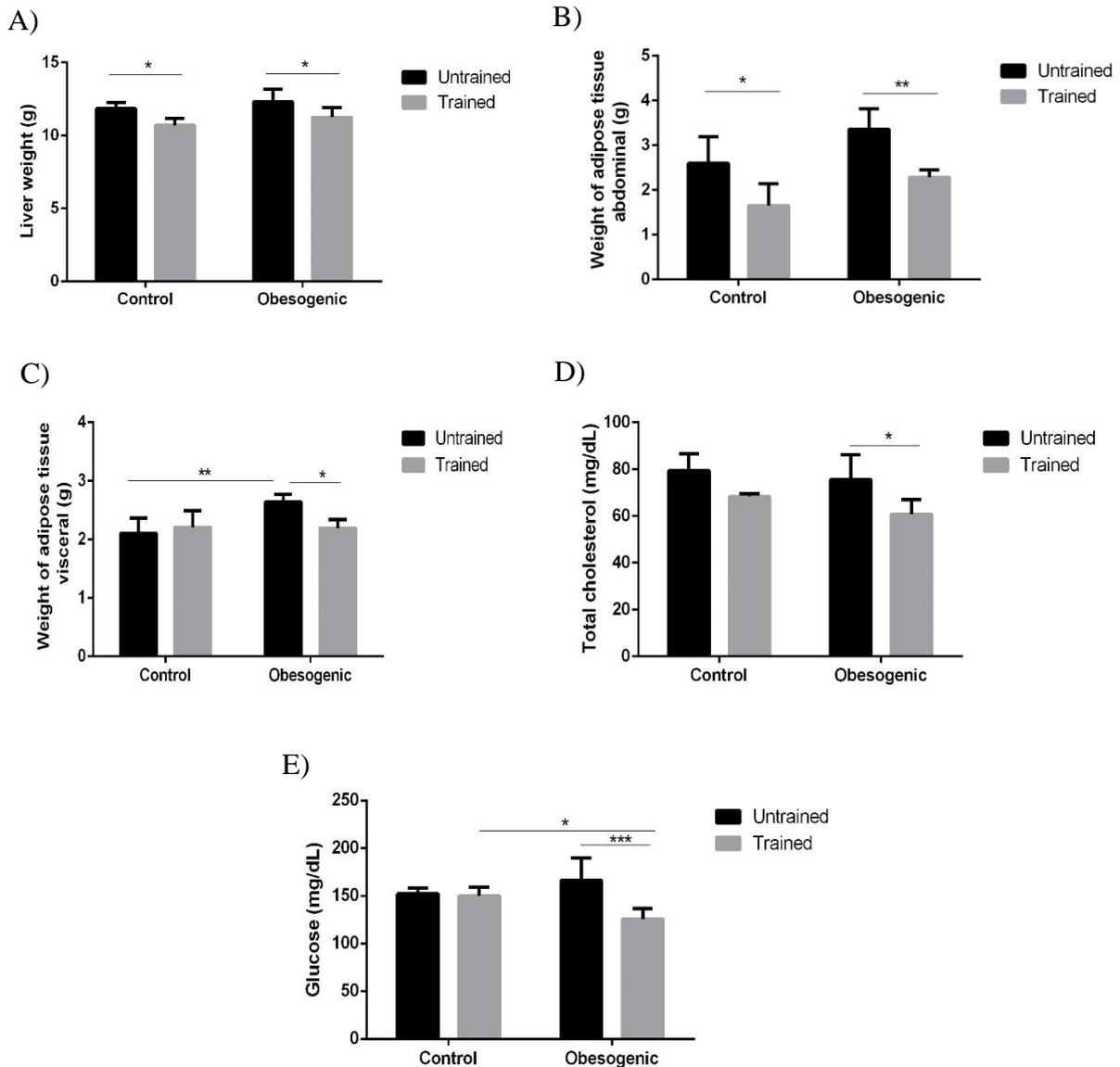
		1° Week (kcal)	2° Week (kcal)	3° Week (kcal)	4° Week (kcal)	Time course total training (kcal)
UC	Ptna	134.28± 3.60	167.50± 8.22	196.25± 8.69	196.25± 23.08	669.79± 25.01
	Lip	49.92± 1.39	64.82± 3.18	75.95± 3.36	75.95± 8.93	259.21± 9.68
	CHO	27709± 7.72	359.79± 17.65	420.47± 18.66	421.55± 49.58	1438.70± 53.73
	<b>Total</b>	<b>456.02± 12.71</b>	<b>592.11± 29.05</b>	<b>691.98± 30.70</b>	<b>693.74± 81.60</b>	<b>2367.69± 88.42</b>
TC	Ptna	128.29± 6.14	141.03± 5.88	161.53± 6.64	163.00± 2.89	591.00± 20.44 <sup>a*</sup>
	Lip	48.94± 2.37	54.58± 2.28	62.51± 2.57	63.08± 1.12	229.10± 7.91 <sup>a*</sup>
	CHO	271.61± 13.18	302.92± 12.64	346.96± 14.26	350.12± 6.20	1271.62± 43.91 <sup>a*</sup>
	<b>Total</b>	<b>447.00± 21.69</b>	<b>498.52± 20.80</b>	<b>570.99± 23.47</b>	<b>576.21± 10.21</b>	<b>2092.72± 72.26<sup>a*</sup></b>
UO	Ptna	145.00± 11.07	168.00± 18.99	165.25± 10.61	187.25± 7.45	660.25± 40.92
	Lip	68.85± 4.28 <sup>c</sup>	65.02± 7.35	63.95± 4.11	72.47± 2.88	225.52± 15.83
	CHO	288.38± 23.77	360.86± 40.80	354.96± 22.79	402.21± 16.01	1418.52± 87.89
	<b>Total</b>	<b>460.68± 39.12</b>	<b>593.88± 67.14</b>	<b>584.16± 37.51</b>	<b>661.93± 16.34</b>	<b>2333.98± 144.64</b>
TO	Ptna	113.67± 4.17	140.25± 11.78	166.25± 5.80	168.25± 7.67	580.75± 10.54 <sup>b*</sup>
	Lip	41.02± 1.61	54.28± 4.56	64.34± 2.25	65.11± 2.97	224.75± 4.08 <sup>b*</sup>
	CHO	227.69± 8.95	301.26± 25.30	357.11± 12.46	361.40± 16.47	1247.45± 22.64 <sup>b*</sup>
	<b>Total</b>	<b>374.71± 14.73</b>	<b>495.78± 41.64</b>	<b>587.69± 20.51</b>	<b>594.76± 27.11</b>	<b>2052.95± 37.26<sup>b*</sup></b>

The difference between the groups was considered significant: Untrained Obesogenic (UO) n=8, Trained Obesogenic (TO) n=8, Untrained Control (UC) n=8, and Trained Control (TC) n=8, in relation to the same week of food and macronutrient consumption. All values were expressed as mean  $\pm$  SEM, after performing the Two-Way ANOVA test followed by the TUKEY multiple comparisons test, considering  $p < 0.05$ . g= grams, kcal= kilocalories, Ptna= proteins, Lip= lipids, CHO= carbohydrates; a: TC vs UC, b: TO vs UO, \*=  $p < 0.005$ .

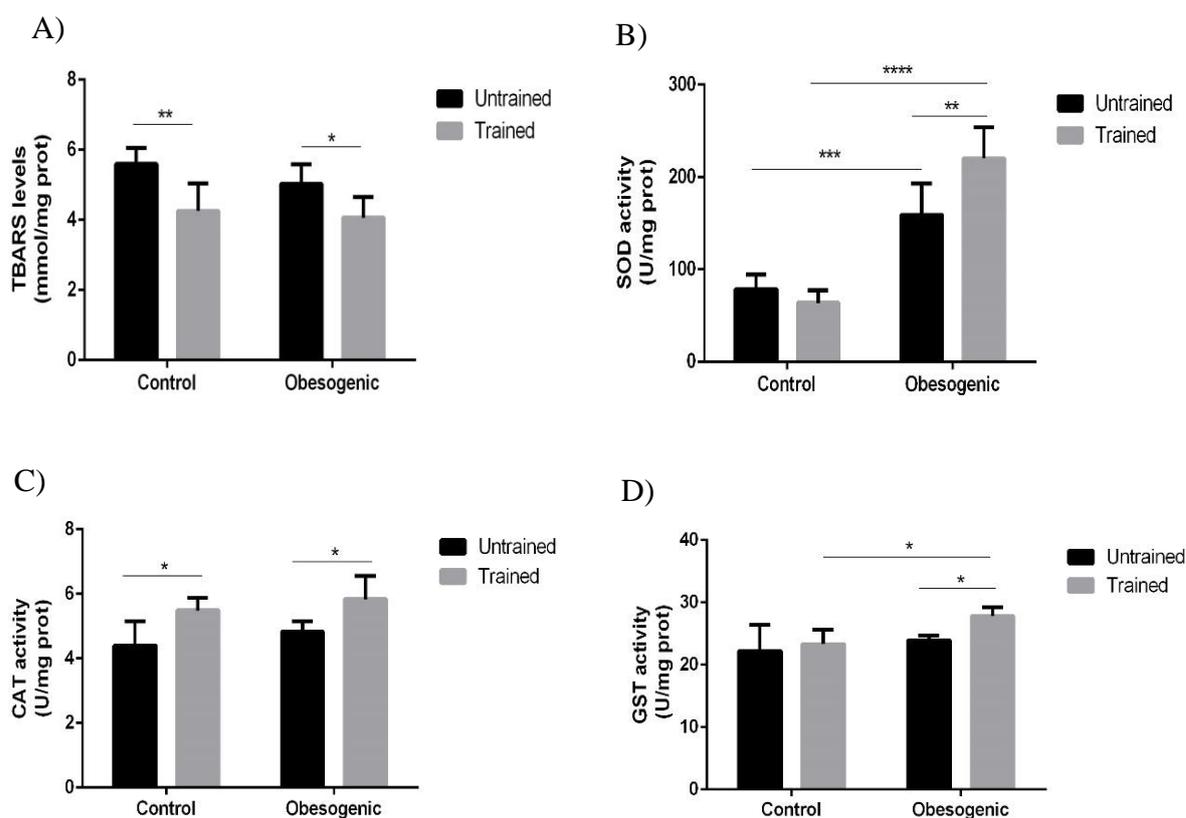
## Figures



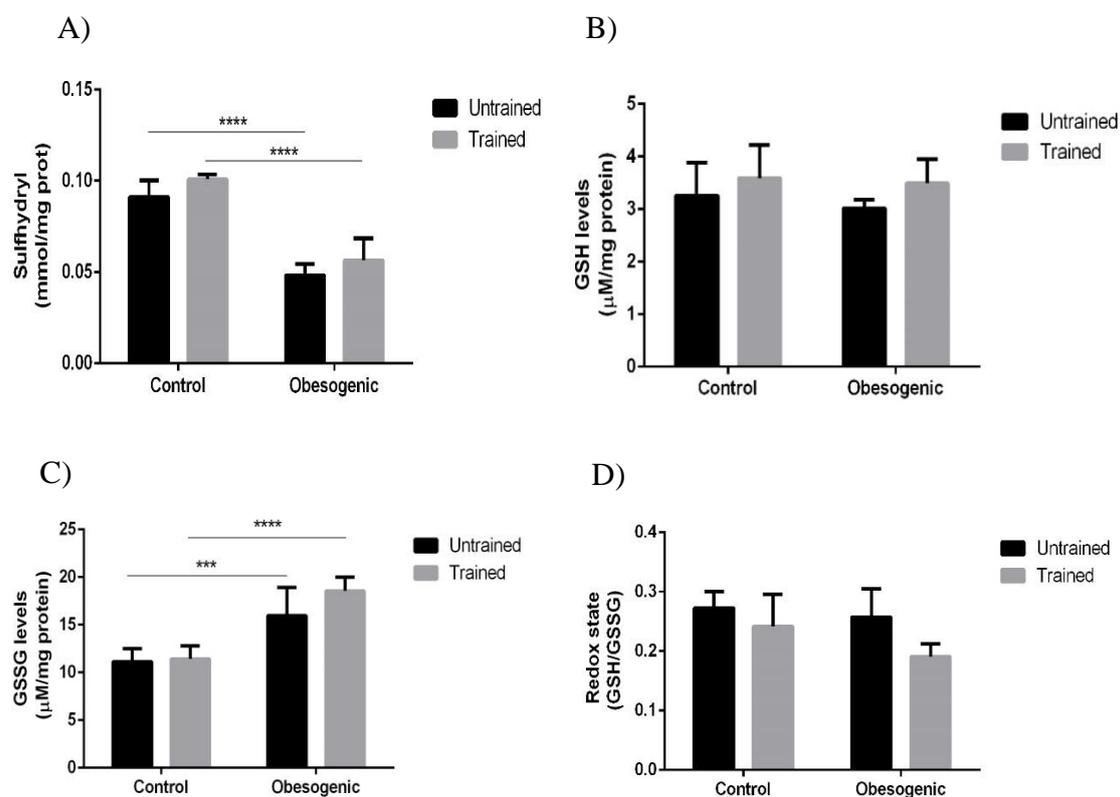
**Figure 1. Body weight of offspring.** A) Birth weight, B) Weaning weight e C) Weight at 60 days of age of male rats born to mothers fed during pregnancy and lactation with control diet or obesogenic diet; n= 5-8. The trained animals were submitted to a training protocol (60 min day/ 5 days/week and 4 weeks). All values were expressed as mean  $\pm$  mean standard error. \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$  performed with Student's t test and two-way ANOVA followed by the TUKEY multiple comparison test.



**Figure 2. Tissues weight and biochemical profile of the offspring.** A) Liver weight, B) Abdominal fat weight, C) Visceral fat weight, D) Total cholesterol levels and E) Glucose levels of male rats born to mothers fed during pregnancy and lactation with control diet or obesogenic diet; n= 5-8. The trained animals were submitted to a training protocol (60 min day/ 5 days/week and 4 weeks). All values were expressed as mean  $\pm$  mean standard error. \*p<0.05, \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001 performed with the two-way ANOVA test followed by the TUKEY multiple comparison test.



**Figure 3. Evaluation of the oxidative stress biomarker and enzymatic antioxidant activity.** A) TBARS levels B) Superoxide dismutase (SOD) activity, C) Catalase (CAT) activity, D) Glutathione-S-transferase (GST) activity in liver homogenate of 60-day-old male rats, born to mothers fed during pregnancy and lactation with control diet or obesogenic diet; n=5-8. The trained animals were submitted to a training protocol (60 min day/ 5 days/week and 4 weeks). All values were expressed as mean  $\pm$  mean standard error. \*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001; \*\*\*\*p<0.0001 performed with the two-way ANOVA test followed by the TUKEY multiple comparison test.



**Figure 4. Evaluation of non-enzymatic antioxidant activity.** A) Sulphydryl levels B) Reduced glutathione (GSH) levels, C) Oxidized glutathione (GSSG) levels and D) REOX state (GHS/ GSSG ratio) in liver homogenate of 60-day-old male rats born to mothers fed during pregnancy and lactation with control diet or obesogenic diet;  $n = 5-8$ . The trained animals were submitted to a training protocol (60 min day/ 5 days/week and 4 weeks). All values were expressed as mean  $\pm$  mean standard error. \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$  performed with the two-way ANOVA test followed by the TUKEY multiple comparison test.

### Complementary table

Table 1. Protocol of 4 weeks of physical training according to the speed and duration of the sessions.

Week	Maximum test speed		50% of maximum capacity		Duration (min)
	TC	TO	TC	TO	
1°	0,6km/h	0,6km/h	0,3km/h	0,3km/h	60*
2°	0,10km/h	0,12km/h	0,5km/h	0,6km/h	5/50/5**
3°	0,14km/h	0,16km/h	0,7km/h	0,8km/h	5/50/5**
4°	0,16km/h	0,18km/h	0,8km/h	0,9km/h	5/50/5**

\* Total running time per day. \*\*5 start and end minutes of running at the speed of the previous week.