



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DA VITÓRIA

DEISIANE DE ARAÚJO CORREIA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO E BALANÇO OXIDATIVO HEPÁTICO DE
RATAS ALIMENTADAS COM DIETA OBESOGÊNICA DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO ACADÊMICO DA VITÓRIA

BACHARELADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

DEISIANE DE ARAÚJO CORREIA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO E BALANÇO OXIDATIVO HEPÁTICO DE
RATAS ALIMENTADAS COM DIETA OBESOGÊNICA DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO**

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

Orientador(a): Mariana Pinheiro
Fernandes

Coorientador(a): Gizele S. de Moura Silva

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do
SIB/UFPE

Correia , Deisiane de Araújo .

Avaliação do perfil bioquímico e balanço oxidativohepático de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação / Deisiane de Araújo Correia . - Vitória de Santo Antão, 2022.

50, tab.

Orientador(a): Mariana Pinheiro Fernandes

Coorientador(a): Gizele Santiago de Moura Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, , 2022.

1. Estresse oxidativo . 2. Dieta obesogênica. 3. Balanço REDOX . 4. Fígado.
I. Fernandes , Mariana Pinheiro. (Orientação). II. Silva, Gizele Santiago de Moura. (Coorientação). III. Título.

610 CDD (22.ed.)

DEISIANE DE ARAÚJO CORREIA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO E BALANÇO OXIDATIVO HEPÁTICO DE
RATAS ALIMENTADAS COM DIETA OBESOGÊNICA DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO**

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

Aprovado em: 14/10/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Mariana Pinheiro Fernandes (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Cláudia Jacques Lagranha (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Severina Cássia de Andrade Silva (Examinador Externo)
Universidade Estadual de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que é a minha figura religiosa no qual eu me apego em períodos de dificuldade e é nele em que deposito toda a minha fé. Gostaria de agradecer imensamente a minha família em especial a Deise de Araújo Silva, explanar que essa conquista é nossa e que ela é a própria representação do que é ser guerreira. Em seguida agradeço a toda minha família Araújo pelo apoio e incentivo para continuar a graduação mesmo sendo em cidades diferentes, em especial a minha eterna avó, Maria Jaide e ao meu eterno tio carinhosamente chamado de Jacó ou “Péricles versão branco” que infelizmente não poderei abraçá-los para comemorar, mas independentemente de onde eles estiverem sentirão que tivemos mais uma conquista e que eles tiveram grande participação nisso. Obrigada Ileildo Honório, foi nítido o quanto você ficou alegre sobre eu ter passado no Sisu, eu não poderia ter um padrasto melhor, que sempre me apoiou em todos os aspectos, se hoje eu concluo a graduação é graças a você também. Agradeço pelo acolhimento ao meu primo Edvaldo e toda sua família, sem eles eu não teria conseguido iniciar a minha graduação aqui em Vitória de Santo Antão.

Agradeço aos meus amigos do ensino médio em especial ao meu grupo denominado de “Panicat’s” que tornaram meus dias mais alegres e por toda ajuda com palavras de incentivo e apoio, com a ajuda na resolução de muitos problemas, pelos rolês de qualidade duvidosa, ao meu querido amigo Fabrício Pedro por todo conhecimento transmitido ao longo de todos esses anos. As amigas que acabei conhecendo fazendo cursinho preparatório para o Enem, obrigada meninas do pré-emília. Agradeço a todos da minha turma de educação física 2018.2, foram anos sofridos, muito perrengue, mas confesso que aprendi muito com vocês, em especial a minha amiga Débora Maria que em meio a pandemia e já sem forças para continuar a graduação, me auxiliou bastante para que eu não desistisse, a Thyago Rodrigues que também teve participação nisso, me apoiou em tudo, esteve ao meu lado, confesso que os estágios foram mais leves porque estava na sua presença, eu fico muito feliz com o quanto a gente evoluiu juntos, serei eternamente grata a vocês. Ao meu grupo denominado de PGC 5-alfa por todo conhecimento, todas apresentações em grupo, todo momento de desespero, agradeço o apoio de vocês, por fim aos meus amigos que de forma direta ou indiretamente me ajudaram a chegar aonde eu cheguei.

Agradeço aos meus professores do ensino médio em especial ao meu professor de biologia Rafael Parisio por toda dedicação para com os alunos, pela didática, pelos momentos de descontração, saiba que eu me inspiro bastante em você, aos professores da graduação que em meio a pandemia e com aulas remotas tentaram deixar as aulas mais estimulantes apesar de diversas limitações, vocês fizeram a diferença na minha vida. Agradeço a minha orientadora Marinha Pinheiro, por todo conhecimento, se hoje eu tenho afinidade pela bioquímica foi tudo graças a ela, pelas aulas e pelo jeitinho singular dela de explicar o conteúdo, além disso

agradeço a ela pela oportunidade de fazer parte da família LABMEX, eu obtive ganhos não só em conhecimento científico como pessoal também.

Agradeço a todos do LABMEX, a minha coorientadora Gizele Santiago, eu não poderia ter coorientadora melhor, me ajudou bastante, nunca esquecerei do que você fez por mim. A minha professora Cláudia Jacques pelos momentos de alfinetadas e descontração, pelos bons momentos que tivemos e por todo conhecimento, agradeço a todos: “Osmara, Thyaga, Nilsa, Capitão América, Jonata, Willa, Well, Ramona, Neta, Carlas, Van, Menina Lê, Dani agrogirl, Tamaravilhosa, Menina Talitta, Cássia” por todo conhecimento, pelas manhãs descontraídas, pelos momentos de desespero quando os experimentos não estavam funcionando ou quando acidentalmente quebrávamos algum material do laboratório, pelas confraternizações e em especial ao dia em que eu estava me sentindo mais desamparada, vocês se fizeram lá presente, foi único, naquele dia eu me senti amada e acolhida.

Agradeço ao meu ex namorado Gabriel Barros e toda sua família. Acompanhou minha graduação desde o início, sempre esteve do meu lado, me apoiou em todas as minhas escolhas, foi muito paciente comigo em todos os períodos da graduação, quando me via desesperada, apesar da distância, ele era minha calma e eu não teria conseguido sem você e sem a ajuda da sua família, vocês têm grande participação na minha formação.

Por fim, gostaria de deixar registrado que foram anos muito difíceis, com pandemia e diversas perdas irreparáveis e sem a contribuição de cada um de vocês eu realmente não teria conseguido. Obrigada de verdade, a todos que de alguma forma contribuiu para com a minha formação. Minha eterna gratidão a todos.

“O limite é uma fronteira criada só
pela mente”

(Racionais MC's)

RESUMO

O consumo de dietas obesogênicas está associado a um quadro de estresse oxidativo em diferentes órgãos e tecidos podendo desencadear doenças crônico-metabólicas como a doença hepática gordurosa não alcoólica levando a disfunções metabólicas decorrentes de um desequilíbrio REDOX. Assim, este trabalho tem como objetivo avaliar o perfil bioquímico e balanço oxidativo hepático de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação. Foram utilizadas Ratas *Wistar* prenhas (n=20), divididas em dois grupos, grupo Controle (C) (n=10) que recebeu dieta de biotério Presence® e o grupo Obesogênico (OB) (n=10) que recebeu dieta com alto teor de ácidos graxos saturados mais a adição de leite condensado durante a gestação e lactação. Aos 21 dias ocorreu o desmame da prole, aos 22 dias ocorreu o TOTG (Teste Oral de Tolerância a Glicose) e aos 23 dias, as ratas mães foram eutanasiadas e avaliados os seguintes parâmetros: peso durante a gestação e lactação, peso do tecido hepático, peso do tecido adiposo visceral e abdominal, perfil bioquímico (glicemia, triglicerídeos, colesterol total, lipoproteína de alta densidade-HDL, TOTG), biomarcadores de estresse oxidativo (níveis de malondealdeído-MDA e Carbonilas), atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase-SOD, catalase-CAT e glutathione-S-transferase-GST), além da avaliação do sistema antioxidante não enzimático (níveis de tióis totais, glutathione reduzida (GSH), glutathione oxidada (GSSG) e estado REDOX celular (razão GSH/GSSG)). Foi utilizado o teste T de Student e os resultados expressos em média \pm EPM considerando significativo $p < 0,05$. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da UFPE (nº0061/2019). Nossos achados mostraram maior peso na gestação (52,31%, $p=0,003$) e menor peso na lactação (26,21%, $p=0,0230$) no grupo OB. Em relação ao peso do fígado não houve diferença significativa entre os grupos. foram maiores os pesos do tecido adiposo abdominal (65,95%, $p=0,0001$) e visceral (19,40%, $p=0,0475$) no grupo OB. Em relação ao perfil bioquímico sérico, o colesterol total não apresentou diferença significativa entre os grupos, mas a glicemia (31,89%, $p=0,0200$), triglicerídeos (61,14%, $p=0,0272$) e o TOTG no tempo 0 (12,55%, $p=0,0301$), tempo 15 (31,76%, $p=0,0172$), tempo 60 (17,80%, $p=0,0248$) e no tempo 120 min (12,84%, $p=0,0247$) foram maiores no grupo OB. Em relação ao biomarcadores de estresse oxidativo houve maiores níveis de MDA (39,86%, $p= 0,025$) e de carbonilas (68,75%, $p=0,017$). A atividade da SOD foi

menor (17,15%, $p=0,030$) e não houve diferença nas atividades da CAT e GST no grupo OB. Os níveis de tióis totais foram menores (19,12%, $p=0,009$) o mesmo foi visto na GSH (11,30%, $p=0,047$), sem diferença significativa nos níveis de GSSG, além de uma diminuição no estado REDOX celular (14,64%, $p=0,049$) no grupo OB comparado ao controle. Nossos dados sugerem que o consumo de dieta obesogênica durante a gestação e lactação promove alterações no peso corporal, no perfil bioquímico e desencadeia um quadro de estresse oxidativo no fígado de ratas, associado a um desequilíbrio no balanço REDOX celular.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Dieta obesogênica; Balanço REDOX; Fígado.

ABSTRACT

The consumption of obesogenic diets is associated with oxidative stress in different organs and tissues, which can trigger chronic metabolic diseases such as non-alcoholic fatty liver disease, leading to metabolic dysfunctions resulting from a REDOX imbalance. Thus, this work aims to evaluate the biochemical profile and hepatic oxidative balance of rats fed with an obesogenic diet during pregnancy and lactation. Pregnant Wistar rats (n=20) were divided into two groups, the Control (C) group (n=10) that received a Presence® vivarium diet and the Obesogenic (OB) group (n=10) that received a diet with high saturated fatty acid content plus the addition of condensed milk during pregnancy and lactation. At 21 days the offspring was weaned, at 22 days the OGTT (Oral Glucose Tolerance Test) was performed and at 23 days the rats were euthanized and evaluated the following parameters: the body weight during pregnancy and lactation, hepatic tissue weight, visceral and abdominal adipose tissues weight, biochemical profile (glycemia, triglycerides, total cholesterol, high-density lipoprotein-HDL, OGTT) and oxidative stress biomarkers (malondialdehyde-MDA and Carbonyls levels), antioxidants enzymes activity (superoxide dismutase-SOD, catalase-CAT and glutathione-S-transferase- GST), in addition to the evaluation of non-enzymatic antioxidant system (total thiols levels, reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG) levels and cellular REDOX status (GSH/GSSG ratio)). Student's T test was used and the results expressed as mean±SEM considering $p < 0.05$ as significant. The project was approved by the Ethics Committee in the Use of Animals of the Biosciences Center of UFPE (n°0061/2019). Our findings show greater weight during pregnancy (52.31%, $p=0.003$) and lower lactation weight (26.21%, $p=0.0230$). Regarding liver weight, there was no significant difference between the groups. Abdominal (65.95%, $p=0.0001$) and visceral (19.40%, $p=0.0475$) adipose tissues weight were higher in the OB group. Regarding the serum biochemical profile, total cholesterol did not show a significant difference between the groups, but blood glucose (31.89%, $p=0.0200$), triglycerides (61.14%, $p=0.0272$) and OGTT at time 0 (12.55%, $p=0.0301$), time 15 (31.76%, $p=0.0172$), time 60 (17.80%, $p=0.0248$) and time 120 min (12.84%, $p=0.0247$) were higher in the OB group. Regarding oxidative stress biomarkers, there were higher MDA (39.86%, $p=0.025$) and carbonyls (68.75%, $p=0.017$) levels and lower total thiols levels (19.12%, $p=0.009$) in the OB group. SOD activity was lower (17.15%, $p=0.030$) and there was no difference in CAT and GST

activities in the OB group. GSH levels were lower (11.30%, $p=0.047$), there were no significant difference in GSSG levels, in addition to a decrease in the cellular REDOX state (14.64%, $p=0.049$) in the OB group when compared to the control. Our data suggest that consumption of an obesogenic diet during pregnancy and lactation promotes changes in the corporal weight, serum biochemical profile and promotes oxidative stress in the liver of rats associated with an imbalance in the cellular REDOX balance.

Keywords: Oxidative stress; Obesogenic diet; REDOX balance; Liver.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Avaliação do delta peso corporal na gestação e lactação de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.....28
- Figura 2** – Avaliação do peso dos tecidos de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação: Peso do fígado, Peso do tecido adiposo abdominal, Peso do tecido adiposo visceral.....30
- Figura 3** – Perfil bioquímico sérico de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação. Glicose, Colesterol, Triglicerídeos, HDL, TOTG.....33
- Figura 4** – Biomarcadores de estresse oxidativo em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação. Malondealdeído, Carbonilas.....34
- Figura 5** - Atividade do sistema antioxidante enzimático em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação: Superóxido dismutase, Catalase, Glutathione-S-Transferase..... 36
- Figura 6** – Figura 6: Avaliação do sistema antioxidante não enzimático em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação: Sulfidrilas, GSH, GSSG, estado REDOX celular (GSH/GSSG).....38

LISTA DE ABREVIações

ABESO	Diretriz Brasileira de Obesidade
CAT	Catalase
CDNB	2,4- Dinitroclorobenzeno
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
DNGA	Doença Hepática Gordurosa Não Alcólica
DNP-SG	Dinitro Fenil S Glutaciona
DTNB	5,5'- Dithiobis (2 nitrobenzoic acid)
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
G6PDH	Glicose 6 Fosfato Desidrogenase
GPX	Glutaciona Peroxidase
GR	Glutaciona Redutase
GSH	Glutaciona Reduzida
GSSG	Glutaciona Oxidada
GST	Glutaciona-S-Tranferase
GTT	Teste de Tolerância a Glicose
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HO [•]	Radical hidroxil
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IQDAG	Índice de Qualidade da Dieta Adaptado para Gestantes
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MDA	Malonaldeído
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NaOH	Hidróxido de sódio
O ₂	Oxigênio
O ₂ ^{•-}	Ânion Superóxido

OMS	Organização Mundial de Saúde
OPT	O- Phthallialdeído
SH	Sulfidrilas
SOD	Superóxido Dismutase
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TCA	Ácido Tricloroacético
TOTG	Teste Oral de Tolerância a Glicose

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2.REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Transição nutricional e dieta obesogênica materna	17
2.2 Estresse oxidativo e disfunção hepática	18
2.3 Dietas hiperlipídicas e doenças crônico-metabólicas	21
3 OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos Específicos	23
4 METODOLOGIA	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A adoção de um padrão dietético com elevados teores de gorduras saturadas e açúcares vem ganhando aderência nas últimas duas décadas (SANTOS *et al.*, 2013). Esse padrão alimentar é conhecido como dieta ocidentalizada e vem se popularizando entre os brasileiros. A obesidade é um problema de saúde pública segundo os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019), o período com maior prevalência de obesidade em mulheres na idade reprodutiva são entre 40 e 59 anos com 38%. A obesidade pode ser caracterizada pelo excesso de gordura depositada em diferentes partes do corpo (OMS, 2019). O desenvolvimento da obesidade é potencializado através de alguns determinantes como o fator genético e fatores ambientais como a falta da prática de exercício físico e o consumo de dietas desbalanceadas, como a dieta obesogênica (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

O hábito de consumir dietas com alto teores de carboidratos e lipídios está se tornando cada vez mais frequente incluindo nas gestantes, podendo levar a um quadro de diabetes gestacional, dislipidemias, síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (OMS, 2019). A dieta materna repercute de forma potencial sobre os filhotes, podendo se prolongar por várias gerações (BEAUCHAMP *et al.*, 2013). Sendo assim, o consumo de ácidos graxos em excesso no período de gestação e lactação pode ser transmitido para o feto e ao recém-nascido através da placenta e do leite materno, respectivamente, e ainda alterar a composição dos ácidos graxos dos fosfolipídios de membrana celular, podendo resultar em graves problemas na estrutura e função das células de seus descendentes (KABARAN; BESLER 2015). As consequências evidenciadas não se aplicam apenas na prole, uma vez que o consumo de dietas desbalanceadas pode causar falhas na reprodução de ratas como também ocasionar abortos (DENTI ACHILES *et al.*, 2019).

O consumo de dietas hiperlipídicas pode causar um aumento de espécies reativas de oxigênio, promovendo estresse oxidativo em tecidos-chave do metabolismo, como o fígado (MURDOLO *et al.*, 2013), devido aos efeitos da aderência dessa dieta, que está relacionada ao desenvolvimento de resistência à insulina e ao acúmulo de gordura no tecido hepático que pode desencadear

Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA), causando desordens metabólicas como o desequilíbrio REDOX (FREITAS *et al.*, 2020).

Embora o organismo possa contar com defesas antioxidantes endógenas, as quais incluem diversas enzimas e seus cofatores. Diante disso, este trabalho propõe-se avaliar o efeito do consumo de dieta obesogênica em ratas, durante a gestação e lactação, sobre o perfil bioquímico sérico e balanço oxidativo hepático.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Transição nutricional e dieta obesogênica materna

O Brasil vem apresentando mudanças estruturais referentes ao padrão comportamental relacionado à dieta, hábitos do cotidiano associados às mudanças econômicas, demográficas, ambientais, culturais, características de um processo chamado de transição nutricional (BARROS *et al.*, 2021). O país apesar de ter um grau considerável de desenvolvimento encontra-se entre um dos países com maior prevalência em deficiências nutricionais e é marcado por diversas mudanças no aspecto nutricional, com o passar das décadas (ESCODA, 2002).

Em 1970, o quadro nutricional esteve fortemente marcado por surtos epidêmicos de fome, com elevados índices de prevalência da severidade e da gravidade da desnutrição energético-proteico. Em 80, a situação nutricional era de carência global de nutrientes e de fome generalizada. Oito anos depois, dois terços das famílias brasileiras estavam em situação de fome crônica em graus e intensidades variadas por consumirem dieta de baixa qualidade. Na década de 90, a situação nutricional apresentou redução da prevalência das formas graves da desnutrição e do bócio endêmico, manutenção das carências relacionadas a obesidade alimentar, diabetes tipo II e dislipidemias (ESCODA, 2002).

A transição nutricional tem relação direta com a busca por alimentos mais práticos, de fácil preparo e isso faz com que os brasileiros priorizem o consumo de alimentos industrializados com elevada densidade calórica em substituição aos alimentos naturais mais saudáveis (BARROS *et al.*, 2021). Devido também a intensificação da urbanização e globalização, cada vez mais há uma desvalorização do consumo de alimentos *in natura* e ricos em fibras, em contrapartida, há um aumento do acesso aos alimentos ultra processados estimulando assim a ingestão de alimentos ricos em açúcares, gorduras e sal (MONTEIRO; MONDINI; COSTA 2001; FERREIRA *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2021).

Esta prática vem ganhando aderência não só pelo brasileiro adulto, mas também por gestantes, muitas têm trocado as principais refeições por comidas prontas, como os lanches. Um estudo feito no Município de Rio de Janeiro em mães adolescentes mostrou que mais de 50% das entrevistadas tinham o

consumo frequente de refrigerantes, açúcar, salgadinhos e batata frita, o que indicou um comportamento alimentar bastante monótono e desfavorável para saúde (BARROS *et al.*, 2004).

Outro estudo realizado em gestantes cadastradas em Unidade de Saúde da Família do Município de Santo Antônio de Jesus verificou que as necessidades nutricionais para o período de gestação não estavam sendo atendidas, por consumirem em excesso açúcares e doces, o que pode implicar em risco nutricional tanto para gestante quanto para o recém-nascido (ARAÚJO, 2005). Na região Metropolitana do Recife, no centro obstétrico do Hospital das Clínicas (HC) através do IQDAG (Índice de Qualidade da Dieta Adaptado para Gestantes) foi constatado que as gestantes que responderam aos questionários tinham um padrão alimentar de baixa qualidade, ainda apresentou deficiência no consumo de nutrientes essenciais como: folato, ferro, fibra, ômega 3 e elevado consumo de alimentos industrializados e de baixa qualidade nutricional (SILVA *et al.*, 2021).

Estudos vem mostrando a importância da ingestão de dietas equilibradas, uma vez que a dieta pode influenciar diretamente na gênese de desordens metabólicas, associadas ao aumento de respostas inflamatórias e a um quadro de estresse oxidativo (CHAVES, 2017).

2.2 Estresse oxidativo e disfunção hepática

O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre a geração de compostos pró-oxidantes e a atuação dos sistemas de defesas antioxidantes, com a prevalência de agentes pró-oxidantes (BARBOSA *et al.*, 2010). O estresse oxidativo está associado ao excesso de radicais livres e espécies reativas, que são átomos ou moléculas que contém um ou mais elétrons desemparelhados na sua última camada, tornando assim reativos (VELLOSA *et al.*, 2021). Produzidos a todo momento no organismo sejam eles devido ao metabolismo mitocondrial, ou a partir do metabolismo do ácido úrico, nos processos de isquemia, entre outros (VELLOSA *et al.*, 2021). E podem causar danos irreversíveis através da degradação de estruturas biológicas essenciais para o funcionamento orgânico celular (LIMA; ABDALLA 2001). As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) são subprodutos derivados do oxigênio diatômico (O₂), sendo eles radicais livres ou

não, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical ânion superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila (HO^\cdot) (SOUSA *et al.*, 2007).

Para equilibrar a ação de agentes pró-oxidantes, o organismo possui sistemas de defesas antioxidantes, que são divididos em enzimáticos e não enzimáticos (HALLIWELL; CROSS 1994; VELLOSO *et al.*, 2021). Dentre os compostos antioxidantes enzimáticos pode-se destacar a Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), e as enzimas relacionadas ao metabolismo das glutathionas como: Glutathione Peroxidase (GPX), Glutathione Redutase (GR), Glutathione-S-Transferase (GST), Glicose-6-Fosfato Desidrogenase (G6PDH), entre outras (SILVA, 2016).

A SOD tem como função catalisar a conversão do ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio monitorando assim seu papel citotóxico (VELLOSA *et al.*, 2021). A CAT catalisa a conversão do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água (VELLOSA *et al.*, 2021). A GPX tem função de proteger as células contra altas concentrações de H_2O_2 reduzindo-o a H_2O e O_2 , entretanto para isso ocorrer é necessário a oxidação simultânea da glutathione reduzida (GSH) em (GSSG). GR tem função de regenerar a glutathione oxidada (GSSG) à sua forma reduzida (GSH) através da ação da Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato (NADPH) oriundo da Glicose-6-fosfato-Desidrogenase que impede que o ciclo metabólico das glutathionas cesse (HALLIWELL; CROSS 1994; SILVA 2016). A GST por sua vez, é uma enzima que tem função de detoxificação de xenobióticos, que catalisa a reação da conjugação entre uma molécula de GSH e um xenobiótico, além de ser utilizada como biomarcadores contra o estresse oxidativo (DANTAS, 2010).

Um estudo de Barbosa *et al.* (2010) mostrou que alimentação balanceada durante a gestação e lactação faz-se necessária, uma vez que o consumo de dieta hiperlipídica durante esse período aumentou os biomarcadores de estresse oxidativo visualizados pelo aumento da peroxidação de lipídeos e oxidação de proteínas e como resposta metabólica foi visto um aumento da atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT no tecido hepático de ratas (BARBOSA *et al.*, 2010).

Sabe-se que fígado é um importante órgão e glândula do corpo humano que realiza diversas funções vitais como: regulação do metabolismo de diversos nutrientes, papel imunológico, síntese proteica e de outras moléculas, armazena vitaminas e ferro, degradação hormonal e excreção de drogas e toxinas (SILVA, 2016). Além disso, exerce um papel importante na regulação da homeostase do colesterol e é responsável por controlar a questão da captação, bem como a síntese *de novo* do colesterol (HORTON *et al.*, 2002). O fígado, sob condições de excesso de carboidratos utiliza glicose como principal fonte de energia, também converte a glicose em ácidos graxos (lipogênese de novo) e esses ácidos graxos podem ser incorporados em triglicerídeos para assim serem armazenados como energia no tecido adiposo (RUI, 2014).

O consumo de dietas hiperlipídicas ocasiona alterações nas funções hepáticas nos processos de absorção, síntese, degradação e secreção de ácidos graxos (AHMED 2015; FREITAS *et al.*, 2020). Um estudo mostrou que o consumo de dieta hiperlipídica no acasalamento, gestação e lactação aumentou a massa relativa do fígado e também a quantidade de depósito de lipídio no tecido hepático (SOUSA, 2019). O acúmulo de lipídio no fígado se dá quando há uma maior captação de ácidos graxos livres e síntese de triglicerídeos de forma superior a oxidação de ácidos graxos (FABBRINI, SULLIVAN, KLEIN 2003; FREITAS *et al.*, 2020).

Entretanto o acúmulo de gordura no tecido hepático está relacionado com a presença de diversas patologias como: esteatose simples, esteatose hepática não alcóolica podendo levar a fibrose avançada, cirrose e hepatocarcinoma (FREITAS *et al.*, 2020). Pois os ácidos graxos livres podem seguir dois caminhos sendo a beta oxidação ou podem ser esterificados para formar triglicerídeos, entretanto o aumento de ácidos graxos livres induz a beta oxidação sobrecarregada e posteriormente ocasiona disfunção mitocondrial, essa disfunção é um dos principais mecanismos responsáveis pelo aumento da geração de espécies reativas de oxigênio, que levam a desregulação dependente de REDOX do metabolismo de lipídeo ocasionando estresse oxidativo (CHEN *et al.*, 2020). O estresse oxidativo pode oxidar biomoléculas ou modificar estruturalmente proteínas e genes a desencadear cascatas de

imobilização que podem levar ao aparecimento de progressão de diversas doenças inflamatórias (CHATTERJEE, 2016).

2.3 Dietas hiperlipídicas e doenças crônico-metabólicas

A dieta é um componente importantíssimo, uma vez que o estado nutricional do indivíduo está fortemente relacionado com a saúde do mesmo, podendo potencializar o desenvolvimento e/ou progressão de doenças crônico-metabólicas (GLUCKMAN; HANSON 2004; SILVA 2016). O perfil bioquímico vem sendo utilizado como uma ferramenta eficiente para acompanhamento e prevenção de disfunções metabólicas (XII SEZUS, 2018). Estudos realizados em ratas mostraram que o consumo de dieta hiperlipídica diminuiu os níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL) (MENEZES, 2016) e que dietas hiperglicídicas contribuíram para o aumento da glicemia (DENTI *et al.*, 2019). Um outro estudo realizou o Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG) em ratas alimentadas com dieta desbalanceada (altos níveis de açúcares e gorduras) mostrou menor tolerância a glicose durante a gestação e lactação (MUSIAL *et al.*, 2017). Destaca-se que essas alterações podem contribuir para o desenvolvimento de diabetes mellitus (DENTI *et al.*, 2019).

As Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) são um conjunto de patologias de causas múltiplas e fatores de risco, com origem não infecciosa e resulta em incapacidade funcional (FIGUEIREDO; CECCON; FIGUEIREDO 2021). Alguns fatores podem potencializar o surgimento das DCNT sendo esses: o tabagismo, sedentarismo e a alimentação (BANDO; GARCIA; COCA 2021). Dentre as DCNT, destacam-se a diabetes e obesidade. A diabetes é caracterizada por níveis elevados de glicose no sangue (hiperglicemia) devido à má funcionalidade na secreção e/ou na ação da insulina no metabolismo de alimentos (BARBOSA, 2019). Outro fator preocupante em relação ao consumo de dieta hiperlipídica é o desenvolvimento da Diabetes Mellitus Gestacional (DMG), que pode ser definida pela diminuição da tolerância à glicose que é iniciada na gestação e pode persistir após o parto. No Brasil, a prevalência de DMG é de 7,6% e em 94% dos casos apresentam apenas tolerância diminuída a glicose. Entretanto, a DMG pode ocasionar complicações materno-fetais como: infecção do trato uterino, hipertensão arterial sistêmica, doença hipertensiva

específica da gestação, abortamento, prematuridade, macrosomia, icterícia e malformação neonatal (PADILHA *et al.*, 2010).

A obesidade é caracterizada pelo excesso de gordura corporal depositada em diferentes partes do corpo, levando à associação com outras doenças como: diabetes, dislipidemias, síndrome metabólica, aterosclerose e doenças cardiovasculares (OMS, 2019). Segundo a Diretriz Brasileira de Obesidade (ABESO), o ambiente tem papel potencializador no desenvolvimento da obesidade que pode estar relacionado ao aumento do número de refeições realizadas, consumo de alimentos com alta densidade energética e baixa qualidade nutricional e diminuição dos níveis de atividade física (ABESO, 2016).

Segundo dados do Vigitel (2016) a prevalência de excesso de peso em mulheres em idade reprodutiva no Brasil entre 18 e 44 anos é de 26,4% à 56,1% (VIGITEL, 2016). Seabra *et al.*, (2011) mostrou em seu estudo realizado na cidade Rio de Janeiro, que quase um quarto de 433 puérperas iniciaram a gestação com sobrepeso ou obesidade (SEABRA *et al.*, 2011). Gonzalez (2015) observou que o consumo de dietas ricas em gorduras e açúcares aumentou o peso na gestação (GONZALEZ, 2015). Silva (2014) mostrou maior acúmulo de tecido adiposo abdominal (SILVA, 2014). Rocha (2020) observou maior acúmulo de tecido adiposo visceral (ROCHA, 2020). Porém a obesidade durante a gestação é uma condição que traz aumento de risco para o desenvolvimento de intercorrências como: DMG, síndromes hipertensivas, sofrimento fetal, maior tempo de trabalho de parto, restrição do crescimento uterino com efeitos negativos tanto para mãe quanto para seus descendentes (BRASIL, Ministério da Saúde, 2022).

Sendo assim, estudos que mostrem os efeitos do consumo de dietas hiperlipídicas, como a dieta obesogênica materna, são importantes e necessários, a fim de possibilitar um maior entendimento dos efeitos de hábitos alimentares inadequados, durante a gestação e lactação, tanto na saúde das mães quanto de sua prole que também pode sofrer consequências metabólicas decorrentes desses maus hábitos alimentares maternos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o perfil bioquímico e balanço oxidativo hepático de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

3.2 Objetivos Específicos

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

- Peso corporal na gestação e lactação;
- Peso do tecido adiposo abdominal e visceral;
- Peso do tecido hepático;
- Perfil bioquímico sérico: glicemia, colesterol total, triglicerídeos, HDL e teste oral de tolerância a glicose;
- Biomarcadores de estresse oxidativo: Níveis de Malonaldeído (MDA) e Carbonilas;
- Atividade das enzimas antioxidantes: Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione-S-transferase (GST);
- Sistema antioxidante não enzimático: Níveis de sulfidrilas-SH, glutathione reduzida (GSH), glutathione oxidada (GSSG), estado REDOX celular (obtido pela razão GSH/GSSG).

4 METODOLOGIA

Animais e Dieta: Foram utilizadas 16 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 h. As ratas foram colocadas para acasalar na proporção de duas fêmeas para um macho. Posteriormente, as ratas foram divididas em dois grupos e em seguida receberam suas respectivas dietas, o grupo Controle (C) (n=8) que recebeu dieta de biotério Presence® e o grupo Obesogênico (n=8) que recebeu uma dieta com altos teores de gorduras e carboidratos. A dieta Presence é composta por 10,9% de lipídios, 28,3% de proteínas e 60,8% de carboidratos. A dieta obesogênica é composta por altos teores de ácidos graxos saturados, adaptada a partir da composição da dieta ocidentalizada utilizada no estudo de Ferro Cavalcante *et al.*, (2013), com 31,5% da energia proveniente das gorduras, 19,6% das proteínas e 49,4% 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 prenhez e durante toda a gestação e lactação. O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da UFPE (nº 0061/2019 – ANEXO I), seguindo as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. As análises ocorreram 24h após o desmame, nas mães.

Peso corporal: Inicialmente foi verificado o peso pré-gestacional, e após detecção da prenhez, o peso corporal das mães foram avaliados a cada 7 dias, durante a gestação e lactação. Foi utilizada uma balança digital de precisão (Marte), com capacidade máxima de 1010g e sensibilidade de pesagem 0,01g.

Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG): A avaliação do TOTG nas mães ocorreu na última semana de lactação, após serem submetidas a um jejum de 12 h. O sangue foi coletado a partir de cortes na ponta da cauda do animal e a

primeira amostra de sangue foi coletada no tempo zero. Em seguida foi administrada por gavagem, a solução de glicose a 50% (Equiplex Pharmaceutical Limited) a uma dose de 2 mg/g de peso corporal. A glicemia das amostras foi medida através do glicosímetro– G-TECH lite, aos 15, 30, 45, 60 e 120 min após a administração da solução (KIM, 2015).

Coleta do tecido hepático e dos tecidos adiposos abdominal e visceral: As mães foram eutanasiadas através do uso da guilhotina. Foi realizada a coleta do tecido hepático e tecidos adiposos abdominal e visceral, e imediatamente todos os tecidos foram pesados e congelados a -80 °C.

Coleta do sangue, avaliação da glicemia, colesterol total e HDL: As análises foram realizadas no primeiro dia após o desmame. As amostras de sangue foram acondicionadas em tubos sem anti-coagulante, centrifugadas a 3500 RPM, por 10 min para obtenção do soro. O sobrenadante foi coletado e utilizado para as análises bioquímicas, utilizando kits colorimétricos da Labtest®.

Avaliação dos níveis de peroxidação lipídica pela metodologia da substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS): Para a dosagem de TBARS foi utilizada a técnica colorimétrica de BUEGE e AUST (1978). Foi adicionada uma alíquota do homogeneizado (300 µg prot.) ao ácido tricloroacético (TCA) a 20%, em seguida, o material foi centrifugado a 1180g por 10 min, o sobrenadante retirado e adicionado ao ácido TBA a 0,73% que reage com os produtos da lipoperoxidação formando um composto de coloração rosada. A mistura foi incubada por 15 min a 100°C e utilizada para a leitura da absorbância a 535nm em espectrofotômetro Biochrom Libra S12 (Biochrom, EUA). Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteína.

Medida dos níveis de oxidação de proteínas (Carbonilas): A avaliação da oxidação de proteínas foi feita como descrito por ZANATTA *et al.* (2013). As proteínas foram precipitadas em TCA a 20% seguido de centrifugação a 1180g por 15 min. O pellet foi ressuspensão e adicionado DNPH 10mM dissolvido em HCl 2.5 N e incubado em local livre de luz a temperatura ambiente por 1h. Posteriormente, as proteínas precipitadas em adição ao TCA 20% foram centrifugadas e lavadas com tampão contendo acetato de etila e etanol, e o precipitado ressuspensão em cloridrato de guanidina e lido em espectrofotômetro

(LIBRA S12 UV/ VISIBLE) a 370 nm (37°C). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/mg}$ de proteína.

Avaliação da atividade da Superóxido dismutase (SOD): A atividade de SOD foi feita de acordo com MISRA & FRIDOVICH (1972). Homogenato de fígado (80 μg de prot.) foram incubados no tampão carbonato de sódio (0,05 %, pH 10.2, 0.1 mM de EDTA) a 37°C. A reação teve início pela adição de 20 μM de epinefrina (150 mM), em ácido acético (0,05 %). A absorbância foi lida a 480nm por 3 min em espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/VISIBLE). Os resultados foram expressos em 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.

Avaliação da atividade enzimática da Catalase (CAT): A atividade da CAT foi monitorada de acordo com AEBI (1984). Peroxido de hidrogênio (H_2O_2) 0,3M foi adicionado a amostra (80 μg de prot.), seguido de adição do tampão fosfato 50mM, pH 7.0 a 20°C. A absorção de decaimento foi monitorizada por 4min, a 240nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína. Uma unidade de catalase foi definida como quantidade de proteína requerida para converter 1 μmol de H_2O_2 em H_2O por minuto.

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 adicionada a amostra (80 μg de proteína) ao tampão fosfato (0.1M) pH 6.5, 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 1 μmol do composto DNP-SG por minuto.

Avaliação dos níveis de glutathione reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e estado REDOX celular (razão GSH/GSSG): Para avaliar os níveis de GSH, as amostras (100 μg de proteína) foram diluídas em tampão fosfato 0,1 M contendo

EDTA 5 mM, pH 8,0. Em seguida, incubada com o-Phthallialdeído à temperatura ambiente durante 15 min. As intensidades de fluorescência foram medidas a 420 nm e excitação a 350 nm em um espectrofluorímetro 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 (100 µg de proteína) foram incubadas com N-etilmaleimida 0,04 M durante 30 min em temperatura ambiente, seguido pela adição de tampão NaOH 0,1 M. Quando esta mistura ficou pronta, os mesmos passos do ensaio de GSH foram seguidos para determinar os níveis de GSSG. O estado REDOX celular foi determinado pela razão GSH/GSSG, segundo o método de Hissin e Hilf (1976) (HISSIN e HILF, 1976).

Avaliação do conteúdo de sulfidrilas-SH: O conteúdo de SH foi determinado a partir da reação com o composto DTNB (5,5'-dithiobis (2-ácido nitro benzoico) (ELLMAN, 1959). A alíquota do homogenato (200 µg de prot.) foi incubada no escuro após a adição de DTNB 10mM e realizada a leitura da absorbância (30°C) a 412nm em espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/VISIBLE). Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteína.

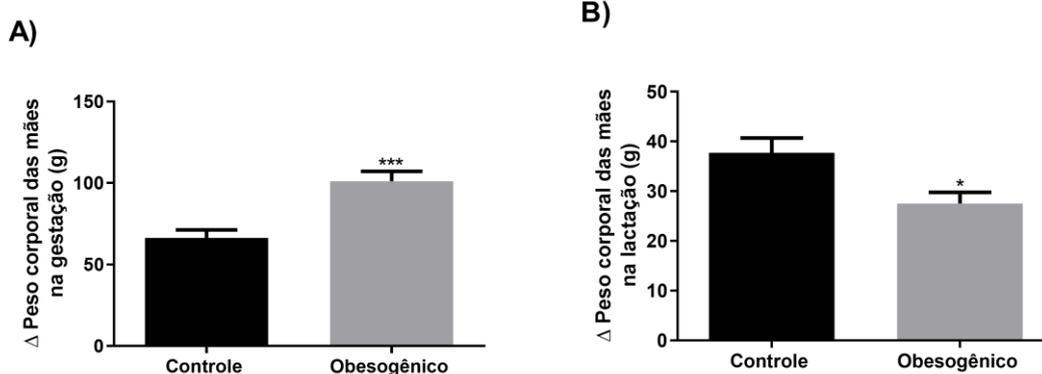
Análise Estatística: Para elaboração dos gráficos e tratamento dos dados estatísticos foi utilizado o software GRAPH PAD PRISM versão 6.0. Inicialmente foi realizado o teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov*. Quando se tratar de dados paramétricos, para comparação entre os grupos foi utilizado o teste T de *Student* não pareado. Os dados foram apresentados em média e desvio padrão da média. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do peso corporal de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

A literatura relata sobre a grande importância da manutenção do peso na gestação, uma vez que o excesso de peso tanto no período pré-gestacional quanto na gestação pode estar fortemente relacionado com o desenvolvimento de doenças como: diabetes gestacional, hipertensão e infecção puerperal (CIDADE *et al.*, 2011). O peso corporal das mães durante a gestação foi maior no grupo que recebeu a dieta obesogênica se comparado ao grupo controle (Figura 1A) (C=66,44±14,57, n=9 vs OB=101,2±18,80 g, n=9 p=0,0003). Nossos achados são semelhantes aos resultados de Gonzalez, 2015, no qual o grupo que recebeu dieta hiperlipídica comparado ao grupo controle teve maior peso gestacional. Entretanto, o peso corporal das mães durante a lactação foi menor no grupo obesogênico se comparado com grupo controle (Figura 1B) (C=37,67±7,448, n=6 vs OB=27,50±5,541 g, n=6, p=0,0230). Nossos achados corroboram com os dados de George *et al.* (2009), no qual as gestantes que receberam dieta de cafeteria em relação ao grupo controle tiveram peso inferior na lactação (GEORGE *et al.*, 2009). A perda de peso durante a lactação é considerado normal, pois é uma forma do corpo tentar recuperar o peso pré-gestacional. Por isso, a lactação pode ter um efeito protetor no sentido de ir contra a retenção de peso pós-parto, além disso no sistema endócrino ocorre algumas alterações e pode facilitar a lipólise no fígado e em tecidos periféricos e na lipogênese mamária devido a ação em conjunto da prolactina e insulina (FALIVENE; ORDEN 2017).

Figura 01: Avaliação do delta peso corporal de ratas alimentadas com dieta obesogênica na gestação e lactação: A) Peso corporal das mães na gestação, B) Peso corporal das mães na lactação.



Fonte: Silva *et al.*, 2021.

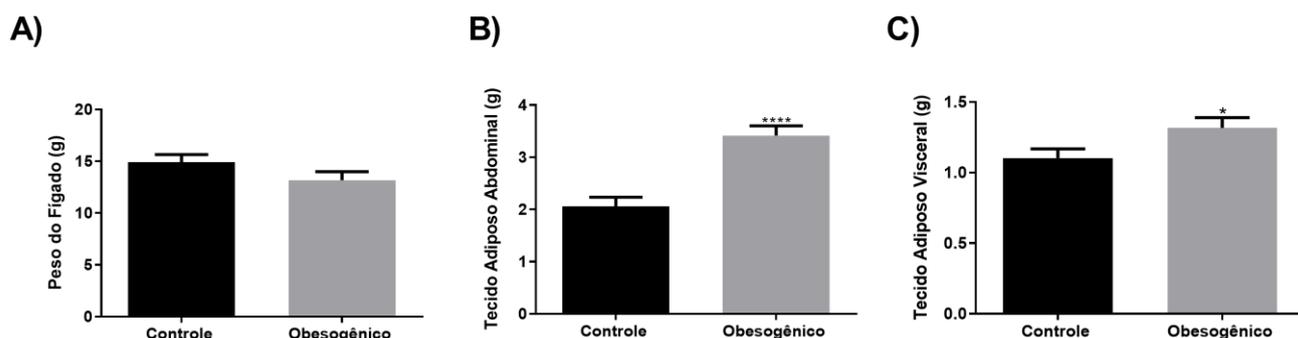
Nota: Gráfico elaborado pela autora com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Avaliação do peso do fígado, do tecido adiposo abdominal e do tecido adiposo visceral de ratas alimentadas com dieta obesogênica na gestação e lactação.

O fígado é um órgão metabólico que ajuda na regulação de estoques tanto de carboidratos quanto de lipídios, garantindo assim oferta de metabólitos (SHEPHARD; JOHNSON 2015). Nossos achados mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao peso do fígado (Figura 2A) (C=14,92±2,281, n=10 vs OB=13,17±2,605 g, n=10, p=0,1278). Entretanto, os achados de Santos (2019) mostraram que o grupo que recebeu dieta obesogênica teve peso do fígado superior se comparado ao controle, no entanto a dieta hiperlipídica que eles utilizaram diverge da nossa, com 32% de banha de porco e 1% de colesterol (SANTOS, 2019). Ao avaliar o peso do tecido adiposo abdominal verificamos que o grupo obesogênico teve maior peso quando comparado ao controle (Figura 2B) (C=2,059±0,554, n=10 vs OB=3,417±0,585 g, n=10, p<0,0001). Resultados semelhantes aos achados de Silva (2014) que visualizou aumento de tecido adiposo abdominal no grupo que recebeu dieta obesogênica (SILVA, 2014). Logo, a dieta teve um papel potencializador no armazenamento de gordura no abdômen, sendo o excesso da mesma associado a alterações metabólicas, como obesidade e diabetes gestacional (NOGUEIRA; CARREIRO 2013). Em relação ao peso do tecido adiposo visceral, encontramos que o grupo obesogênico teve maior depósito de tecido adiposo visceral se

comparado ao controle (Figura 2C) ($C=1,103\pm 0,184$, $n=8$ vs $OB=1,317\pm 0,193$ g, $n=7$, $p=0,047$). Esses resultados são semelhantes aos achados de Rocha et al., (2020) que também visualizaram maior depósito de tecido adiposo visceral em animais que receberam dieta com elevados teores de gordura (46% de dieta comercial, 46% de leite condensado e 8% de óleo de milho) (ROCHA, 2020). Diante disso, a dieta obesogênica potencializou o estoque também de gordura visceral, sendo o grupo obesogênico mais vulnerável aos efeitos do aumento do tecido adiposo visceral, que podem ser resistência à insulina, maior risco de doenças cardiovasculares e doença arterial coronariana (FILHO; FERNANDO 2006).

Figura 02: Avaliação do peso dos tecidos de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação: A) Peso do fígado, B) Peso do tecido adiposo abdominal, C) Peso do tecido adiposo visceral.



Fonte: Fonte: Silva *et al.*, 2021.

Nota: Gráfico elaborado pela autora com base nos resultados obtidos na pesquisa.

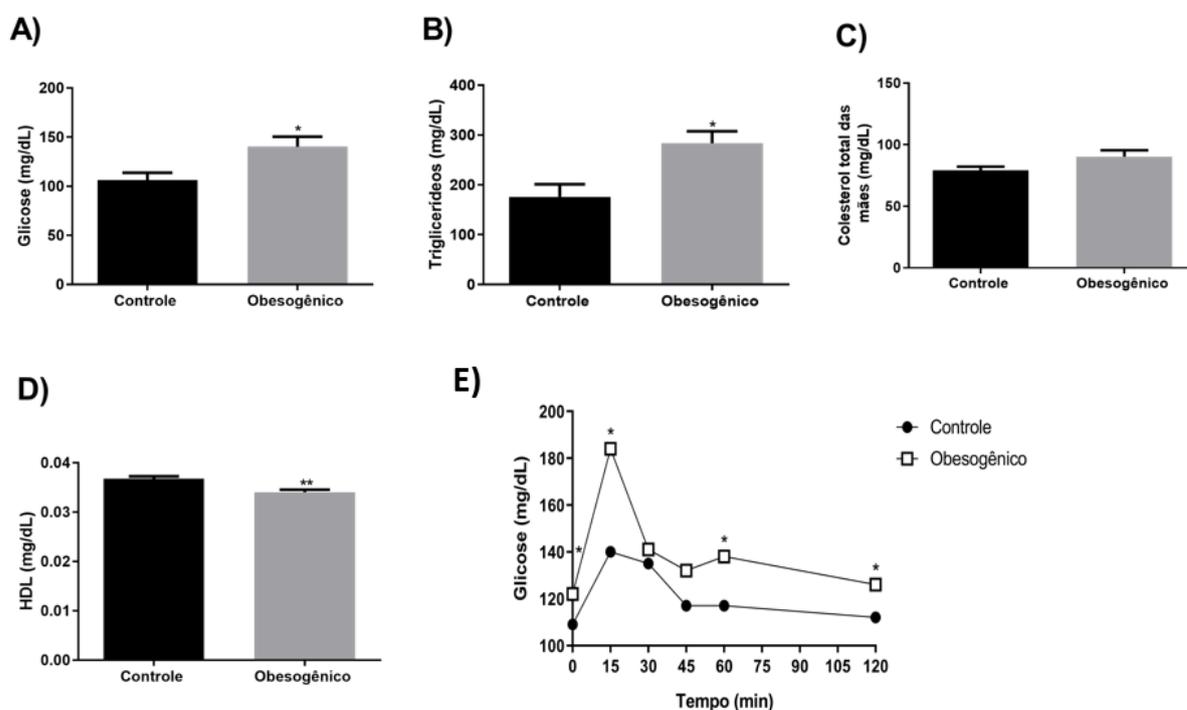
Avaliação do perfil bioquímico sérico (Glicose, Colesterol, Triglicerídeos, HDL, TOTG) de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

Os níveis de glicose foram maiores no grupo obesogênico quando comparado com o grupo controle (Figura 3A) ($C=106,3\pm 19,74$, $n=7$ vs $OB=140,2\pm 27,12$ mg/dL, $n=7$, $p=0,0200$). Esse achado mostra que a dieta obesogênica causou hiperglicemia em ratas durante a gestação e lactação podendo impactar também no aumento da resistência à insulina e assim

potencializar o desenvolvimento de um quadro de diabetes mellitus gestacional (DMG) (PAC, 2008). O colesterol é um lipídio muito importante por suas diversas atuações: precursor de hormônios, ácidos biliares e vitamina D, além de atuar na fluidez e regulação metabólica. Por sua vez, o excesso de colesterol está associado, dentre outros fatores, ao aumento do desenvolvimento de doenças cardíacas e acidente vascular cerebral (MALTA *et al.*, 2019). Nossos achados mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos em relação aos níveis de colesterol total (Figura 3B) (C=79,17±8,134, n=7 vs OB=90,28±13,53 mg/dL, n=7, p=0,0874). O mesmo foi visto nos resultados de FRALOUB *et al.*, 2010 em camundongos C57BL/6 adultos, alimentados com dieta com alto teor de gordura 60%, durante 16 semanas. Diante disso, acreditamos que para haver diferença significativa entre os grupos controle ou obesogênico, talvez a dieta tivesse que ser ofertada por mais tempo para observar tal efeito. Os triglicerídeos têm papel importante no organismo, por servirem de reserva energética. A dislipidemia é caracterizada pelo aumento anormal dos níveis de colesterol e triglicerídeos (NASCIMENTO, 2016). Nossos achados mostraram que o grupo obesogênico teve níveis superiores de triglicerídeos se comparado ao controle (Figura 3C) (C=175,8±43,96, n=3 vs 283,3±53,80 mg/dL, n=5, p=0,0272). Esses resultados corroboram com os achados de FRALOUB *et al.* (2010) em camundongos C57BL/6 que receberam dieta obesogênica. O grupo que recebeu dieta obesogênica indica maior vulnerabilidade devido ao aumento de triglicerídeos, uma vez que esse aumento pode contribuir para a patogênese da colestase intra-hepática, pré-eclâmpsia, hipertensão crônica e diabetes (NASCIMENTO, 2016). HDL é uma lipoproteína de alta densidade, a redução dos níveis de HDL está relacionada com a maior probabilidade de desenvolver colestase intra-hepática gestacional (MALTA *et al.*, 2019). Nossos achados mostram que o grupo que recebeu dieta hiperlipídica teve níveis menores de HDL se comparado ao grupo controle (Figura 3D) (C=0,0367±0,0011, n=6 vs OB=0,03401±0,0014 mg/dL, n=7, p=0,0035). Nossos achados são semelhantes aos de Gonzalez, 2015 e sugerem que a dieta materna afetou negativamente as ratas do grupo obesogênico e aumentou o risco de complicações na gestação. O teste oral de tolerância a glicose (TOTG) é utilizado para verificar se a homeostase permanece após uma dose elevada de glicose, sendo imprescindível para o diagnóstico de DMG (SILVA, 2020). Foi observado que

nos tempos 0, 15, 60 e 120 min, os níveis de glicose a 50% no grupo obesogênio foi maior do que no controle, tempo 0 (C=109,1±13,31, n=8 vs OB=122,8±8,828 mg/dL, n=8, p=0,0301), tempo 15 (C=140,1±30,87, n=8 vs OB=184,6±34,90 mg/dL, n=8 p=0,0172), tempo 60 (C=117,4±11,36, n=8 vs OB=138,3±20,54 mg/dL, n=8 p=0,0247) e tempo 120 min (C=112,1±11,44, n=8 vs OB=126,5±11,43 mg/dL, n=8 p=0,0248) (Figura 3D). Diminuição da tolerância a glicose também foi vista num estudo de Musial et al. (2017) no qual no tempo 30, 45, 60min, o grupo que recebeu dieta com elevados teores de gordura e açúcar também tiveram menor tolerância a glicose (MUSIAL et al., 2017). Diminuição de tolerância a glicose na gravidez pode levar a um quadro de DMG aumentando a probabilidade de parto pré-termo, feto macrossômico e pré-eclampsia (PAC, 2008), sendo o grupo obesogênico mais vulnerável a esses efeitos.

Figura 3: Perfil bioquímico sérico de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação. A) Níveis de glicose, B) Níveis de Colesterol total, C) Níveis de triglicerídeos, D) Níveis de HDL, E) Teste oral de tolerância a glicose-TOTG.



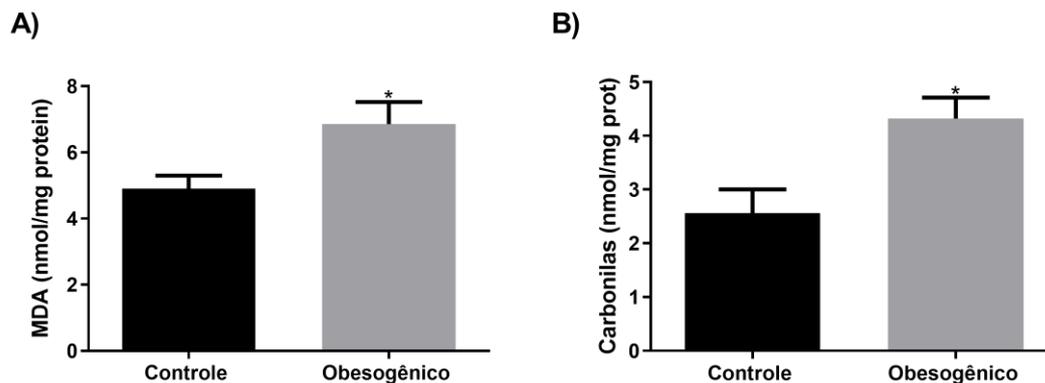
Fonte: Fonte: Silva *et al.*, 2021.

Nota: Gráfico elaborado pela autora com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Avaliação dos biomarcadores de estresse oxidativo em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

A membrana plasmática é o componente celular que mais sofre ação das espécies reativas de oxigênio (EROs), que pode resultar em alterações na estrutura e permeabilidade da mesma, fragilizando assim a troca de íons, liberação de organelas e formação de produtos citotóxicos como o malonaldeído-MDA, que é muito utilizado por ser um indicador da ação de radicais livres em excesso no organismo (FERREIRA; MATSUBARA 1997). Nossos achados mostraram que o grupo obesogênico teve maior peroxidação lipídica se comparado ao controle (Figura 4A) (C=4,904±1,047, n=7 vs OB=6,859±1,624 nmol/mg prot, n=6, p=0,0238), corroborando com achados prévios de SANTOS, (2019). A oxidação proteica resulta em proteínas carboniladas que podem ser decorrentes da presença de espécies reativas de oxigênio ou por meio indiretos, como o envolvimento da peroxidação lipídica. Foi visto que o grupo obesogênico teve maior oxidação proteica quando comparado ao grupo controle (Figura 4B) (C=2,560±0,9915, n=5 vs OB=4,320±0,8758 nmol/mg prot, n=5, p=0,0177). Os achados de Barbosa (2019) também mostraram maior oxidação proteica em animais alimentados com dieta hiperlipídica. Sendo assim, a aderência de consumo de dieta obesogênica durante a gestação e lactação promove maior peroxidação tanto de lipídios quanto de proteínas, mostrando indicativos de estresse oxidativo no grupo obesogênico.

Figura 4: Biomarcadores de estresse oxidativo em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação. A) Níveis de Malondealdeído, B) Níveis de Carbonilas.



Fonte: Fonte: Silva *et al.*, 2021.

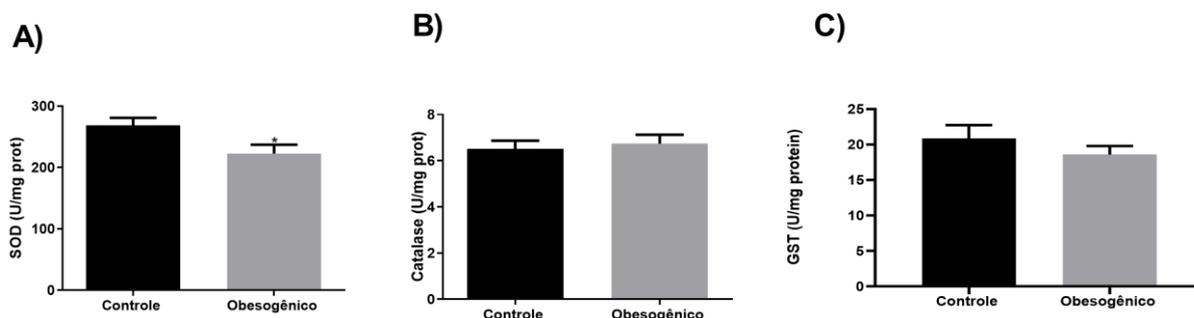
Nota: Gráfico elaborado pela autora com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Avaliação da atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GST) em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

A SOD é uma enzima antioxidante, que tem função de dismutar o ânion superóxido (O_2^-) em oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (HE *et al.*, 2017). Em nossos resultados foi visto que o grupo obesogênico teve menor atividade da SOD quando comparado ao grupo controle (Figura 5A) (C=268,7±31,89, n=7 vs OB=222,6±38,39 U/mg prot, n=7, p=0,0308). Diferentemente dos achados de Santos (2019) que apresentou maior atividade da SOD no grupo que recebeu dieta hiperlipídica, entretanto a dieta ministrada tinha uma composição diferente da que utilizamos em nosso estudo (SANTOS, 2019). Diante disso, a dieta ofertada para as mães poderia estar causando um impacto tão negativo a ponto do organismo não conseguir aumentar a atividade enzimática para tentar reverter o quadro de estresse oxidativo. A Catalase é responsável por catalisar a redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a água (H_2O) e oxigênio (O_2). Essa enzima é importante pois atua para que não ocorra o acúmulo de peróxido de hidrogênio, uma vez que mediante a presença de metais de ferro e cobre, o peróxido de hidrogênio pode gerar radical hidroxil ($OH\bullet$), para o qual não há sistema enzimático que possa neutralizá-lo (BARBOSA *et al.*, 2010). Nossos achados mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 5B) (C=6,514±1,119, n=10 vs OB=6,745±1,147 U/mg prot, n=9, p=0,661). Os dados de SOD e CAT analisados de forma conjunta sugerem que o organismo do grupo obesogênico está mais vulnerável a agentes

pró-oxidantes, por não poder reverter a situação através de um aumento da atividade da enzima catalase, já que a atividade da SOD estava diminuída. A Glutathione-S-Transferase é uma importante enzima antioxidante e pertence a uma família multifuncional de enzimas que catalisam a conjugação da molécula de glutathione a várias outras moléculas e possui papel fundamental na detoxificação intracelular de compostos endo e xenobióticos (CHELVANAYAGAMA *et al.*, 2001). A GST também auxilia no reparo, regeneração e biossíntese de metabólitos fisiologicamente importantes (RAI *et al.*, 2017). Nossos achados mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 5C) (C=20,86±4,187, n=5 vs OB=18,60±2,696 U/mg prot, n=5, p=0,339).

Figura 5: Atividade do sistema antioxidante enzimático em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação: A) Atividade da Superóxido Dismutase, B) Atividade da Catalase, C) Atividade da Glutathione-S-Transferase.



Fonte: Fonte: Silva *et al.*, 2021.

Nota: Gráfico elaborado pela autora com base nos resultados obtidos na pesquisa.

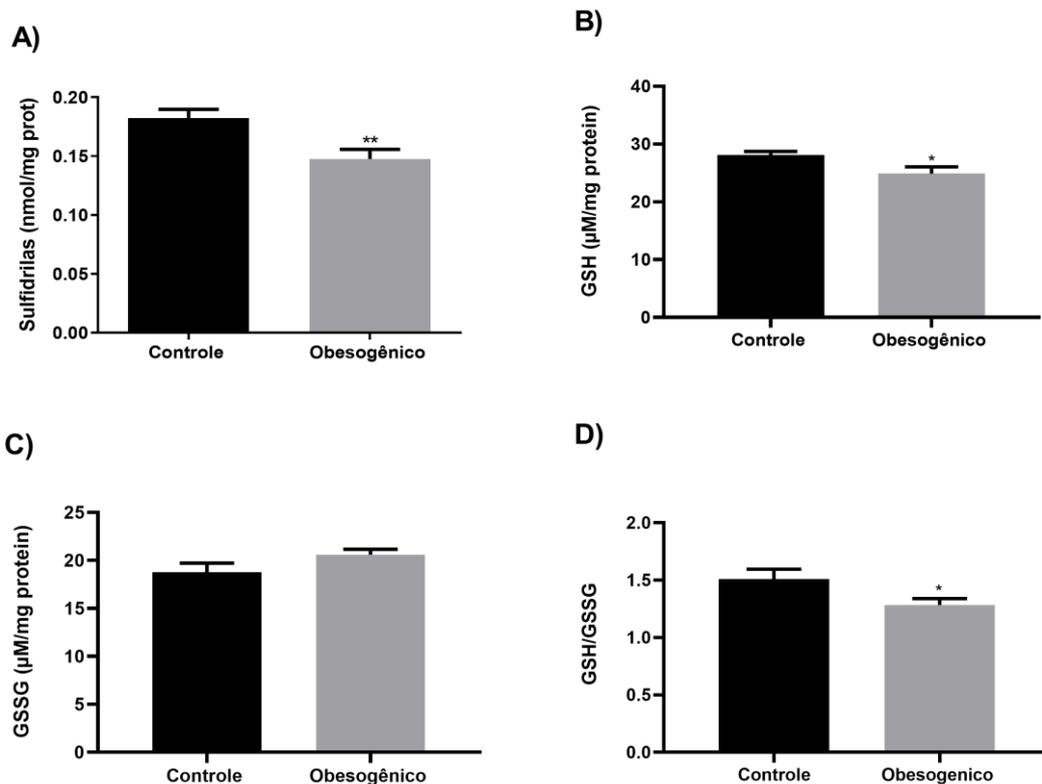
Avaliação dos níveis de tióis totais (SH), glutathione reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e estado REDOX celular (GSH/GSSG) de ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

As sulfidrilas são consideradas um dos principais biomarcadores antioxidantes (KOLOGAL *et al.*, 2009), uma vez que possuem ação contra os

radicais livres (KAYACAN; YAZAR; KISA 2018). Podemos visualizar através dos nossos dados que o grupo obesogênico teve uma diminuição nos grupos sulfidrilas quando comparado ao grupo controle (Figura 6A) (C=0,1825±0,0349, n=7 vs OB=0,0112±0,0102 nmol/mg prot, n=6, p=0,009). Resultados semelhantes foram vistos por Souza (2010) a partir da utilização de uma dieta hipercolesterolêmica (25% de óleo de soja e 1% de colesterol) no fígado de ratos (SOUZA, 2010). Assim, nossos dados sugerem que a dieta hiperlipídica contribui para a ação de agentes pró-oxidantes e mostra uma maior vulnerabilidade do grupo obesogênico. A glutathione faz parte do sistema antioxidante não enzimático e é um tripeptídeo que pode se apresentar de forma reduzida (GSH) ou oxidada (GSSG), que participa de processos importantíssimos pois atua de forma direta ou indireta em processos biológicos como síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular (ROVER *et al.*, 2001). A GSH é o tiol celular mais abundante com baixa massa molecular, possui função de desintoxicação e eliminação de xenobióticos e defesa contra o estresse oxidativo (JOSEPH; MANNERVIK; ORTIZ 1997). Nossos resultados apresentaram uma diminuição dos níveis de glutathione reduzida no grupo obesogênico (Figura 6B) (C=28,07±1,400, n=5 vs OB=24,88±2,819 μmol/mg protein, n=6, p=0,047). O mesmo foi visto no fígado de ratos hiperlipidêmicos (ZHANG *et al.*, 2013). Assim, o grupo obesogênico estaria mais susceptível ao estresse oxidativo, uma vez que os níveis de tióis totais e GSH estão reduzidos nessas ratas, em função da dieta. Em tecidos saudáveis, 90% das glutathiones são encontradas na forma reduzida (RODRIGUÊS, 2010). Mas a glutathione reduzida (GSH) pode sofrer oxidação e se apresentar na forma sua oxidada (GSSG). Nossos achados não mostraram diferença significativa entre os grupos em relação aos níveis de GSSG (Figura 6C) (C=18,77±2,148 n=5 vs OB=20,58±1,284 μmol/mg protein, n=5, p=0,143). A razão GSH/GSSG indica o estado REDOX celular e em condições de estresse oxidativo a GSH converte-se em sua maioria em GSSG, diminuindo assim a razão GSH/GSSG (RODRIGUES, 2010). Foi visto uma diminuição da razão GSH/GSSG no grupo obesogênico (Figura 6D) (C=1,509±0,1960, n=5 vs OB=1,285±0,1318 μmol/mg protein, n=6, p=0,049). O mesmo foi visto no fígado de ratos hiperlipidêmicos (ZHANG *et al.*, 2013). De uma forma conjunta, esses dados mostram uma maior vulnerabilidade aos

agentes pró-oxidantes no grupo obesogênico, principalmente em função de uma menor atividade do sistema antioxidante não enzimático.

Figura 6: Avaliação do sistema antioxidante não enzimático em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação: A) Níveis de Sulfidrilas, B) Níveis de GSH, C) Níveis de GSSG, D) Estado REDOX celular (razão GSH/GSSG).



Fonte: Fonte: Silva *et al.*, 2021.

Nota: Gráfico elaborado pela autora com base nos resultados obtidos na pesquisa.

6 CONCLUSÃO

Nossos achados mostram que o consumo de dieta obesogênica durante a gestação e lactação promove um aumento do peso no período gestacional, maior depósito de gordura abdominal e visceral, além de promover alterações desfavoráveis no perfil bioquímico dessas ratas, como também nos biomarcadores de estresse oxidativo, visto que houve aumento da peroxidação lipídica, maior oxidação de proteínas e diminuição da atividade da enzima antioxidante SOD, além de diminuir o estado REDOX mostrando menor capacidade de defesas contra lesões oxidativas.. Dessa forma, nossos achados sugerem que a aderência de uma dieta obesogênica nos períodos de gestação e lactação resulta num quadro de estresse oxidativo hepático.

REFERÊNCIAS .

AEBI, Hugo. [13] Catalase in vitro. **Methods In Enzymology**, [S.L.], p. 121-126, 1984. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3).

AHMED, Monjur. Non-alcoholic fatty liver disease in 2015. **World Journal Of Hepatology**, [S.L.], v. 7, n. 11, p. 1450, 2015.

ANGULO, Paul. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 346, n. 16, p. 1221-1231, 18 abr. 2002. Massachusetts Medical Society.

ARAËJO, Elinalva dos Santos; SANTANA, Jerusa da Mota; BRITO, Sheila Monteiro; SANTOS, Djanilson Barbosa dos. Consumo alimentar de gestantes atendidas em Unidades de Saúde. **O Mundo da Saúde**, [S.L.], v. 40, n. 1, p. 28-37, 31 mar. 2016. Centro Universitario Sao Camilo - São Paulo.

BAIÃO, Mirian Ribeiro; DESLANDES, Suely Ferreira. Alimentação na gestação e puerpério. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 245-253, abr. 2006.

BANDO, Daniel Hideki; GARCIA, Mariana Rangel; COCA, Estevan. DOENÇAS ENDÓCRINAS, NUTRICIONAIS, METABÓLICAS E HÁBITOS ALIMENTARES EM ESTUDANTES ADOLESCENTES NOS ESTADOS E CAPITAIS DO BRASIL, 2019. **Revista Eletrônica da Associação dos Geógrafos Brasileiros, Seção Três Lagoas - (Issn 1808-2653)**, [S.L.], p. 574-592, 24 dez. 2021. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira; COSTA, Neuza Maria Brunoro; ALFENAS, Rita de Cássia Gonçalves; PAULA, Sérgio Oliveira de; MINIM, Valéria Paula Rodrigues; BRESSAN, Josefina. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 629-643, ago. 2010.

BARBOSA, Priscila O.; SOUZA, Melina O.; SILVA, Maraísa P.s.; SANTOS, Gabrielly T.; SILVA, Marcelo E.; BERMANO, Giovanna; FREITAS, Renata N.. Açai (*Euterpe oleracea* Martius) supplementation improves oxidative stress biomarkers in liver tissue of dams fed a high-fat diet and increases antioxidant enzymes' gene expression in offspring. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 139, p. 111627, jul. 2021.

BARBOSA, Priscila Oliveira. **O consumo da polpa de açaí (*Euterpe oleracea martus*) durante a gestação e lactação atenua o esteatose hepática em ratas e protege a prole contra o excesso de lipídeos**. 2019. 152 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019.

BARBOSA, Silvânia Araujo; CAMBOIM, Francisca Elidivânia de Farias. Diabetes mellitus : nursing care for control and complications prevention. **Temas em Saúde**, João Pessoa, v. 16, n. 3, p. 404-417, mar. 2016.

BARROS, Dayane de Melo *et al.* A INFLUÊNCIA DA TRANSIÇÃO ALIMENTAR E NUTRICIONAL SOBRE O AUMENTO DA PRÉVALÊNCIA DE DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS. **Brazilian Journals Of Development**, Curitiba, v. 7, n. 7, p. 1-18, 28 jul. 2021.

BARROS, Denise Cavalcante de *et al.* O consumo alimentar de gestantes adolescentes no Município do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 121-129, 2004.

BEAUCHAMP, Gary K.; MENNELLA, Julie A.. Flavor Perception in Human Infants: development and functional significance. **Digestion**, [S.L.], v. 83, n. 1, p. 1-6, 2011.

BUEGE, John A.; AUST, Steven D.. [30] Microsomal lipid peroxidation. **Methods In Enzymology**, [S.L.], p. 302-310, 1978.

CAMPANELLA, Luciane Coutinho de Azevedo *et al.* Efeito da suplementação de óleo de cártamo sobre o peso corporal, perfil lipídico, glicídico e antioxidante de ratos wistar induzidos a obesidade. **Revista de Ciências farmacêuticas básica e Aplicada**, [S.I.], v. 35, n. 8, p. 141-147, fev. 2014.

CAVALCANTE, Taisy Cinthia Ferro; SILVA, Jennyffer Mayara Lima da; SILVA, Amanda Alves da Marcelino da; MUNIZ, Gisélia Santana; LUZ NETO, Laércio Marques da; SOUZA, Sandra Lopes de; CASTRO, Raul Manhães de; FERRAZ, Karla Mônica; NASCIMENTO, Elizabeth do. Effects of a Westernized Diet on the Reflexes and Physical Maturation of Male Rat Offspring During the Perinatal Period. **Lipids**, [S.L.], v. 48, n. 11, p. 1157-1168, 18 set. 2013.

CAVALCANTE, Taisy Cinthia Ferro; SILVA, Jennyffer Mayara Lima da; SILVA, Amanda Alves da Marcelino da; MUNIZ, Gisélia Santana; LUZ NETO, Laércio Marques da; SOUZA, Sandra Lopes de; CASTRO, Raul Manhães de; FERRAZ, Karla Mônica; NASCIMENTO, Elizabeth do. Effects of a Westernized Diet on the Reflexes and Physical Maturation of Male Rat Offspring During the Perinatal

Period. **Lipids**, [S.L.], v. 48, n. 11, p. 1157-1168, 18 set. 2013.

CHATTERJEE, Shampa. Estresse oxidativo, inflamação e doença. **Rev. Nutrição**. [S.I.], v 10, n.1, p.200-2008, maio 2016.

CHAVES, Larissa Oliveira. **BIOMARCADORES PRECOSES DO ESTRESSE OXIDATIVO NA SÍNDROME METABÓLICA E SUA ASSOCIAÇÃO COM A INFLAMAÇÃO E O PERFIL LIPÍDICO**. 2017. 146 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2017.

CHELVANAYAGAM, G.; PARKER, M.W.; BOARD, P.G Fly fishing for GSTs: a unique nomenclature for mammalian and insect glutathione transferases. **Chemico-Biological Interactions**, v. 133, n.1-3, p. 256-260, 2001.

CHEN, Ze et al. Papel do estresse oxidativo na patogênese da doença hepática gordurosa não alcoólica. **Rev. Nutr. Metabolismo** , [S.I.], v. 152, n. 10, p. 1-26, 26 fev. 2020.

CIDADE, Denise Gomes. **Obesidade e sobrepeso pré-gestacionais: Prevalência e complicações obstétricas e perinatais**. 2011. 82 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Brasília, 2011.

COELHO, Henrique Sergio Morais. Monotemático Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica. **Sociedade Brasileira de Hepatologia**. Rio de Janeiro, v.10, n. 4, p. 1038-1048, 2016.

CORDEIRO, Anna Raquel Maia. **ESTADO NUTRICIONAL E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE RATAS ALIMENTADAS COM DIETA DISLIPIDÊMICA DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO E SUAS REPERCUSSÕES SOBRE O ESTADO NUTRICIONAL DA PROLE**. 2016. 33 f. TCC (Graduação) - Curso de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

CRIVELLENTI, Livia Castro; ZUCCOLOTTO, Daniela Cristina Candelas; SARTORELLI, Daniela Saes. Development of a Diet Quality Index Adapted for Pregnant Women. **Revista de Saúde Pública**, [S.L.], v. 52, p. 59, 8 maio 2018.

DANTAS, R. F. **Glutathione peroxidase e estresse oxidante em pacu, Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887)**. 2010, 150f. Tese (Doutorado)- Nutrição, UERJ, Rio de Janeiro, 2010.

DENTI, Irany Achilles; CICHOTA, Luiz Carlos; VEDOVATTO, Andressa.

Evidence of the effects of fructose intake in wistar rats pregnancy. **Perspectiva, Erechim**, São Paulo, v. 43, n. 161, p. 29-40, mar. 2019.

ELLMAN, George L.. Tissue sulfhydryl groups. **Archives Of Biochemistry And Biophysics**, [S.L.], v. 82, n. 1, p. 70-77, maio 1959.

ESCODA , Maria do Socorro Quirino. For a critic to the nutritional transition. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 7, n.4, p. 1-8, 30 jul. 2002.

FABBRINI, Elisa; SULLIVAN, Shelby; KLEIN, Samuel. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. **Hepatology**, [S.L.], v. 51, n. 2, p. 679-689, 9 set. 2009.

FALIVENE, Mariana A.; ORDEN, Alicia B.. Maternal behavioral factors influencing postpartum weight retention. Clinical and metabolic implications. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 251-259, jun. 2017.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.s.. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.L.], v. 43, n. 1, p. 43-61, mar. 1997.

FERREIRA, Haroldo da Silva *et al.* Hypertension, abdominal obesity and short stature: aspects of nutritional transition within a shantytown in the city of Maceió (Northeastern Brazil). **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 209-218, abr. 2005.

FERREIRA, Regicely Aline Brandão; BENICIO, Maria Helena D'Aquino. Obesity in Brazilian women: association with parity and socioeconomic status. **Rev. Panamericana de Salud Pública**, [s. l], v. 37, n. 3, p. 337-342, mar. 2015.

FIALHO, Fernanda de Souza Menna Barreto. **Consumo de alimentos ultraprocessados na gravidez e no pós-parto e retenção de peso**. 2018. 51 f. TCC (Graduação) - Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

FIGUEIREDO, Ana Elisa Bastos; CECCON, Roger Flores; FIGUEIREDO, José Henrique Cunha. Doenças crônicas não transmissíveis e suas implicações na vida de idosos dependentes. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 77-88, jan. 2021.

FRANCISCHI, Rachel Pamfilio Prado de; PEREIRA, Luciana Oquendo; FREITAS, Camila Sanchez; KLOPFER, Mariana; SANTOS, Rogério Camargo; VIEIRA, Patrícia; LANCHÁ JÚNIOR, Antônio Herbert. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 17-28, abr. 2000.

FRAULOB, Julio C.; OGG-DIAMANTINO, Rebeca; FERNANDES-SANTOS, Caroline; AGUILA, Marcia Barbosa; MANDARIM-DE-LACERDA, Carlos A.. A Mouse Model of Metabolic Syndrome: insulin resistance, fatty liver and non-alcoholic fatty pancreas disease (nafpd) in c57bl/6 mice fed a high fat diet. **Journal Of Clinical Biochemistry And Nutrition**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 212-223, 2010.

FREITAS, Paula Alexandre de *et al.* DIETA HIPERLIPÍDICA INDUZ DANOS HEPÁTICOS ASSOCIADOS À DHGNA SEM DESEQUILÍBRIO REDOX NO FÍGADO DE CAMUNDONGOS SWISS. **Ciência Animal**, [S.I.], v. 30, n. 3, p. 23-35, mar. 2020.

GEORGE, G.; *et al.* The impact of exposure to the cafeteria diet during pregnancy or lactation complications. **Indian J Nephrology**. [S.I.], v. 19, n. 1, p. 5-12, abril 2009.

GEORGE, Grace; DRAYCOTT, Sally A. V.; MUIR, Ronan; CLIFFORD, Bethan; ELMES, Matthew J.; LANGLEY-EVANS, Simon C.. The impact of exposure to cafeteria diet during pregnancy or lactation on offspring growth and adiposity before weaning. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 141-173, 2 out. 2019.

GLUCKMAN, Peter D; A HANSON, Mark. Developmental Origins of Disease Paradigm: a mechanistic and evolutionary perspective. **Pediatric Research**, [S.L.], v. 56, n. 3, p. 311-317, set. 2004.

GONZALEZ, Gabrielle de P. Lopes. **A alimentação com dieta hiperlipídica, contendo óleo de soja, durante a gestação e lactação, influencia a composição corporal e o desenvolvimento do hipocampo da prole de ratos wistar**. 2015. 143 f. Tese (Doutorado) - Curso de Fisiopatologia Clínica e Experimental, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

HABIG, W H; PABST, M J; JAKOBY, W B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **J Biol Chem**, [s. /], v. 22, n. 5, p. 249-262, nov. 1974.

HALLIWELL, B; CROSS, C e. Oxygen-derived species: their relation to human

disease and environmental stress.. **Environmental Health Perspectives**, [S.L.], v. 102, n. 10, p. 5-12, dez. 1994.

HE, Long; HE, Ting; FARRAR, Shabnam; JI, Linbao; LIU, Tianyi; MA, XI. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. **Cellular Physiology And Biochemistry**, [S.L.], v. 44, n. 2, p. 532-553, 2017.

HISSIN, Paul J.; HILF, Russell. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, [S.L.], v. 74, n. 1, p. 214-226, jul. 1976.

HORTON, Jay D.; GOLDSTEIN, Joseph L.; BROWN, Michael S.. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 109, n. 9, p. 1125-1131, 1 maio 2002.

JOSEPH, P. D.; Mannervik, B.; Ortiz de Montellano, P.; *Molecular Toxicology*, 1st ed., **Oxford University Press**: New York, v.10, n.3, p.152-186,1997.

KABARAN, Seray; BESLER, H. Tanju. Do fatty acids affect fetal programming? **Journal Of Health, Population And Nutrition**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 200-210, 13 ago. 2015.

KAYACAN, Yildirim; YAZAR, Hayrullah; KISA, Emin Can; GHOJEBEIGLOO, Babak Elmi. A novel biomarker explaining the role of oxidative stress in exercise and l-tyrosine supplementation: thiol/disulphide homeostasis. **Archives Of Physiology And Biochemistry**, [S.L.], v. 124, n. 3, p. 232-236, 11 out. 2017.

KOLOGAL V, Karanam SA, Dharmavarapu PK, D'souza R, Upadhy S, Kumar V et al. Determination of oxidative stress markers and their importance in early diagnosis of uremia-related on the growth of offspring and adiposity before weaning. **Sci Rep**. New York, v. 9, n. 3, p. 141-73, out., 2019.

LIMA, Émersom Silva; ABDALLA, Dulcineia Saes Parra. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas / Lipid peroxidation: mechanisms and evaluation in biological samples. **Rbcf, Rev. Bras. Ciênc. Farm. (Impr.)**, São Paulo, p. 293-303, dez. 2001.

LIMA, M. S.; PEREZ, G. S.; MORAIS, G. L.; SANTOS, L. S.; CORDEIRO, G. S.; COUTO, R. D.; DEIRÓ, T. C. B. J.; LEANDRO, C. G.; BARRETO-MEDEIROS, J. M.. Effects of maternal high fat intake during pregnancy and

lactation on total cholesterol and adipose tissue in neonatal rats. **Brazilian Journal Of Biology**, [S.L.], v. 78, n. 4, p. 615-618, 8 jan. 2018.

MACHADO, Mariana Verdelho. Non-alcoholic fatty liver disease: what the clinician needs to know. **World Journal Of Gastroenterology**, [S.L.], v. 20, n. 36, p. 12956, 2014.

MALTA, Deborah Carvalho; SZWARCOWALD, Celia Landman; MACHADO, Ísis Eloah; PEREIRA, Cimar Azeredo; FIGUEIREDO, André Willian; SÁ, Ana Carolina Micheletti Gomide Nogueira de; VELASQUEZ-MELENDEZ, Gustavo; SANTOS, Filipe Malta dos; SOUZA JUNIOR, Paulo Borges de; STOPA, Sheila Rizzato. Prevalência de colesterol total e frações alterados na população adulta brasileira: pesquisa nacional de saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 1-10, 2019.

Manual de gestação de alto risco [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção Primária à Saúde. **Departamento de Ações Programáticas**. – Brasília : Ministério da Saúde, 2022.

MARCIO C. MANCINI (São Paulo) (ed.). **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. 4. ed. São Paulo: Associação Brasileira Para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. [S.I.], v. 10, n. 7, p. 188-198. 2016.

MARQUE, Emanuele Souza *et al.* Social representations on the diet of nursing mothers. **Ciência e Saúde Coletiva**, [S.I.], v. 10, n. 16, p. 4267-4274, nov. 2011.

MARTINS, Ana Paula Bortoletto; BENICIO, Maria Helena D'Aquino. Influência do consumo alimentar na gestação sobre a retenção de peso pós-parto. **Revista de Saúde Pública**, [S.L.], v. 45, n. 5, p. 870-877, out. 2011.

MARTINS, K. P. D. S.; SANTOS, V. G. D.; LEANDRO, B. B. S.; OLIVEIRA, O. M. A. Transição nutricional no Brasil de 2000 a 2016, com ênfase na desnutrição e obesidade. **Asklepion: Informação em Saúde**, v. 1, n. 3, p. 113-132, jan.2021.

MENEZES, M. A. **Impactos da dieta “ocidentalizada” durante a gestação e lactação na resposta inflamatória aguda e suas implicações na eficácia farmacológica da nimesulida na prole adulta de ratos wistar**. 2016. 147 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Patologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

MISRA, Hara P.; FRIDOVICH, Irwin. The Role of Superoxide Anion in the Autoxidation of Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 247, n. 10, p. 3170-3175, maio 1972.

MONTEIRO, Carlos Augusto; MONDIN, Lenise; COSTA, Renata BI. Secular changes in dietary patterns in the metropolitan areas of Brazil (1988-1996). **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 251-258, mar. 2000.

MORAIS, Graciele Lima. **EFEITOS DA DIETA DE CAFETERIA DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE PARÂMETROS GLICÊMICOS E PERFIL LIPÍDICO EM RATAS**. 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2012.

MURDOLO, Giuseppe; PIRODDI, Marta; LUCHETTI, Francesca; TORTOIOLI, Cristina; CANONICO, Barbara; ZERBINATI, Chiara; GALLI, Francesco; IULIANO, Luigi. Oxidative stress and lipid peroxidation by-products at the crossroad between adipose organ dysregulation and obesity-linked insulin resistance. **Biochimie**, [S.L.], v. 95, n. 3, p. 585-594, mar. 2013.

MUSIAL, Barbara; VAUGHAN, Owen R.; FERNANDEZ-TWINN, Denise S.; VOSHOL, Peter; OZANNE, Susan E.; FOWDEN, Abigail L.; SFERRUZZI-PERRI, Amanda N. A Western-style obesogenic diet alters maternal metabolic physiology with consequences for fetal nutrient acquisition in mice. **The Journal Of Physiology**, [S.L.], v. 595, n. 14, p. 4875-4892, 5 abr. 2017.

NASCIMENTO, Iramar Baptistella do; SALES, Willian Barbosa; FLEIG, Raquel; SILVA, Grazielle Dutra da; SILVA, Jean Carl. Excess weight and dyslipidemia and their complications during pregnancy: a systematic review. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 93-101, jun. 2016.

NOGUEIRA, Anelise Impelizeri; CARREIRO, Marina Pimenta. Obesity and pregnancy. **Revista Médica de Minas Gerais**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 88-98, 2013.

Organização Mundial de Saúde (OMS). **Alimentação infantil: bases fisiológicas**. São Paulo: IBFAN Brasil, OMS, OPAS, UNICEF; 1994.

PAC, Miranda. Diabetes mellitus gestacional. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.L.], v. 54, n. 6, p. 1-8, dez. 2008.

PADILHA, Patricia de Carvalho; SENA, Ana Beatriz; NOGUEIRA, Jamile Lima;

ARAÏJO, Roberta Pimenta da Silva; ALVES, Priscila Dutra; ACCIOLY, Elizabeth; SAUNDERS, Cláudia. Terapia nutricional no diabetes gestacional. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 95-105, fev. 2010.

RAI, Sahara; CHOWDHURY, Alimul; RENIERS, Renate L. E. P.; WOOD, Stephen J.; LUCAS, Samuel J. E.; ALDRED, Sarah. A pilot study to assess the effect of acute exercise on brain glutathione. **Free Radical Research**, [S.L.], v. 52, n. 1, p. 57-69, 13 dez. 2017

RIBEIRO FILHO, Fernando F.; MARIOSA, Lydia S.; FERREIRA, Sandra R. G.; ZANELLA, Maria Teresa. Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [S.L.], v. 50, n. 2, p. 230-238, abr. 2006.

RIBEIRO, Vania Mattoso. **EFEITO DO CONSUMO DE BEBIDAS RICAS EM POLIFENÓIS SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E NÍVEIS RELATIVOS DE RNAm DOS GENES p53 e ATM EM ANIMAIS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**. 2018. 107 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Aplicadas A Produtos Para Saúde, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2018.

ROCHA, Raissa Linares de Melo; ALMEIDA, Martha Elisa Ferreira de; RAMOS, José Antonio de Souza Cruz; MELO, Aline Braga de; BOTREL, Diego Alvarenga; FERNANDES, Regiane Victória de Barros. Parâmetros morfométricos e quantitativos de tecidos adiposos de ratos alimentados com resíduos de lichia. **Journal Of Health & Biological Sciences**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1, 5 nov. 2020.

RODRIGUÊS, A.s.s.N.. **Glutationa: Envolvimento em defesa antioxidante, regulação de morte celular programada e destoxificação de drogas**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2010.

RODRÍGUEZ?GONZÁLEZ, Guadalupe L.; REYES?CASTRO, Luis A.; BAUTISTA, Claudia J.; BELTRÁN, Azucena A.; IBÁÑEZ, Carlos A.; VEGA, Claudia C.; LOMAS?SORIA, Consuelo; CASTRO?RODRÍGUEZ, Diana C.; ELÍAS?LÓPEZ, Ana L.; NATHANIELSZ, Peter W.. Maternal obesity accelerates rat offspring metabolic ageing in a sex?dependent manner. **The Journal Of Physiology**, [S.L.], v. 597, n. 23, p. 5549-5563, 11 nov. 2019.

ROVER JÚNIOR, Laércio; HÖEHR, Nelci Fenalti; VELLASCO, Adriana Paula; KUBOTA, Lauro Tatsuo. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 1-10, fev. 2001.

RUI, Liangyou. Energy Metabolism in the Liver. **Comprehensive Physiology**, [S.L.], p. 177-197, 10 jan. 2014.

SANTOS, Gabrielly Thaís. **Efeito da dieta hiperlipídica suplementada com polpa de açaí durante a gestação e lactação sobre o estado oxidativo de ratas e suas proles**. 2019. 66 f. TCC (Graduação) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019.

SANTOS, R. D. *et al.* I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.I.], v. 100, n. 1, p. 1-40, nov. 2013.

SCHNEIDER, Cláudia Dornelles; OLIVEIRA, Alvaro Reischak de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Soc. Bras. Med. Esp.**, [S.I.], v. 10, n. 4, p. 1-8, ago. 2004.

SEABRA, Gisele *et al.* Pregestational overweight and obesity: prevalence and outcome associated with pregnancy. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, São Paulo, v. 11, n. 33, p. 1-18, nov. 2011.

SHEPHARD, Roy J.; JOHNSON, Nathan. Effects of physical activity upon the liver. **European Journal Of Applied Physiology**, [S.L.], v. 115, n. 1, p. 1-46, 4 nov. 2014.

SILVA, Gabriele A.; SOUZA, Cláudio L.; OLIVEIRA, Márcio V.. Oral glucose tolerance test: unnecessary requests and suitable conditions for the test. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.L.], v. 56, n. 1, p. 200-215, 2020.

SILVA, Gizele Santiago de Moura. **EFEITOS DA RESTRIÇÃO PROTEICA PERINATAL NA SEGUNDA GERAÇÃO DE RATAS JOVENS: AVALIAÇÃO DO METABOLISMO OXIDATIVO HEPÁTICO DA PROLE**. 2016. 51 f. TCC (Graduação) - Curso de Educação Física, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2016.

SILVA, Karla Melo Ferreira. **Obesidade induzida por dieta em diferentes tempos: efeitos sobre análises murinométricas, hematológicas e imunológicas de ratas**. 2014. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

SILVA, Laura Mata de Lima. **Efeitos da ingestão de uma dieta hiperlipídica ocidentalizada suplementada com ômega 3 durante a gestação e lactação**

sobre os parâmetros cardiorrespiratórios e metabólicos na prole de ratos machos. 2018. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

SILVA, Tatiana Vanessa Nascimento da; NERIS, Vanessa Alves; ALBUQUERQUE, Mellina Neyla de Lima; GOMES, Andressa Caroline Burgos; AUGUSTO, Flaviani Diogo Reis; CAVALCANTI, Rafaella de Andrade Silva; MAIO, Regiane; BURGOS, Maria Goretti Pessoa de Araújo. Consumo alimentar de gestantes de alto risco através de um índice de qualidade da dieta adaptado. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 301-349, 20 mar. 2021.

SINGH, Shailendra P.; SCHRAGENHEIM, Joseph; CAO, Jian; FALCK, John R.; ABRAHAM, Nader G.; BELLNER, Lars. PGC-1 alpha regulates HO-1 expression, mitochondrial dynamics and biogenesis: role of epoxyeicosatrienoic acid. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, [S.L.], v. 125, p. 8-18, set. 2016.

SOUSA, Cleyton Marcos de M.; SILVA, Hilris Rocha e; VIEIRA-JR., Gerardo Magela; AYRES, Mariane Cruz C.; COSTA, Charlyton Luis S. da; ARAËJO, Delton Sérvulo; CAVALCANTE, Luis Carlos D.; BARROS, Elcio Daniel S.; ARAËJO, Paulo Breitner de M.; BRANDÃO, Marcela S.. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 351-355, abr. 2007.

SOUSA, Grazielle Galdino de. **DIETA HIPERLIPÍDICA MATERNA DESREGULA O METABOLISMO HEPÁTICO DA PROLE ADULTA F2.** 2019. 109 f. Tese (Doutorado) - Curso de Bioquímica Metabólica e Fisiológica, Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais, 2019.

SOUZA, Melina Oliveira de; SILVA, Maísa; SILVA, Marcelo Eustáquio; OLIVEIRA, Riva de Paula; PEDROSA, Maria Lucia. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, [S.L.], v. 26, n. 7-8, p. 804-810, jul. 2010.

VELLOSA, José Carlos Rebuglio; BIAVATTI, Marilene; FRANÇÓIA, Pamella Cristina Oliveira; MELLO, Bruna Juliana de; ALMEIDA, Any Caroline de; BUENO, Gabriel Elias. ESTRESSE OXIDATIVO: uma introdução ao estado da arte / oxidative stress. **Brazilian Journal Of Development**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

WANG, Ningning; LIU, Yang; MA, Yanan; WEN, Deliang. High-intensity interval

versus moderate-intensity continuous training: superior metabolic benefits in diet-induced obesity mice. **Life Sciences**, [S.L.], v. 191, p. 122-131, dez. 2017.

WHITE, Pollyanna A. S.; CERCATO, Luana M.; ARAËJO, Jéssica M. D.; SOUZA, Lucas A.; SOARES, Andréa F.; BARBOSA, Ana Paula O.; R. NETO, José M. de; MARÇAL, Anderson C.; MACHADO, Ubiratan F.; CAMARGO, Enilton A.. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [S.L.], v. 57, n. 5, p. 339-345, jul. 2013.

WHO - World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: **Technical Report Series**. [S.I.], v. 10, n. 12, p. 330- 358, 2019.

XII SEZUS. **A importância do perfil bioquímico como ferramenta de monitoramento para prevenir disfunções metabólicas**. São Luís de Montes Belos, v. 6, n. 2, p. 6- 10, 2018.

ZANATTA, Ângela; MOURA, Alana Pimentel; TONIN, Anelise Miotti; KNEBEL, Lisiane Aurélio; GRINGS, Mateus; LOBATO, Vannessa Araújo; RIBEIRO, César Augusto João; DUTRA-FILHO, Carlos Severo; LEIPNITZ, Guilhian; WAJNER, Moacir. Neurochemical Evidence that the Metabolites Accumulating in 3-Methylcrotonyl-CoA Carboxylase Deficiency Induce Oxidative Damage in Cerebral Cortex of Young Rats. **Cellular And Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 137-146, 28 set. 2012.

ZHANG, W., *et al.* Ativação da via de transsulfuração pelo ácido salvanólico um tratamento: uma abordagem de redução da homocisteína com efeitos benéficos na homeostase redox em ratos hiperlipidêmicos induzidos por dieta rica em gordura. **Nutr. E Metabolismo**. Londres, v. 10, n. 68, p.100-114, 2013.

ZUCCOLOTTO, Daniela Cristina Candelas; CRIVELLENTI, Livia Castro; FRANCO, Laércio Joel; SAROTELLI, Daniela Saes. Dietary patterns of pregnant women, maternal excessive body weight and gestational diabetes. **Revista de Saúde Pública**, [S.L.], v. 53, p. 52, 26 jun. 2019. Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA). <http://dx.doi.org/10.11606/s1518-8787.2019053000909>.