



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DA VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

BRUNO BARROS DE ALBUQUERQUE

EFEITOS DA DIETA OBESOGÊNICA MATERNA DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO NO BALANÇO REDOX E METABOLISMO PANCREÁTICO DE
RATAS

Vitória de Santo Antão

2024

BRUNO BARROS DE ALBUQUERQUE

**EFEITOS DA DIETA OBESOGÊNICA MATERNA DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO NO BALANÇO REDOX E METABOLISMO PANCREÁTICO DE
RATAS**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Mariana Pinheiro Fernandes

Vitória de Santo Antão

2024

Catálogo na Fonte
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Ana Ligia F. dos Santos CRB-4/2005

A345e Albuquerque, Bruno Barros de.
 Efeitos da dieta obesogênica durante a gestação e lactação no balanço redox e metabolismo pancreático de ratas/ Bruno Barros de Albuquerque.
 - Vitória de Santo Antão, 2024.
 66 f.; il., tab., graf.

 Orientadora: Mariana Pinheiro Fernandes.
 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Pós-graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, 2024.
 Inclui referências e anexo.

 1. Dieta Hiperlipídica. 2. Estresse Oxidativo. 3. Expressão Gênica. I. Fernandes, Mariana Pinheiro (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23. ed.)

BIBCAV/UFPE -12/2024

BRUNO BARROS DE ALBUQUERQUE

**EFEITOS DA DIETA OBESOGÊNICA MATERNA DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO NO BALANÇO REDOX E METABOLISMO PANCREÁTICO DE
RATAS**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Pernambuco.

Aprovado em: 28/02/2024

BANCA EXAMINADORA

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

Prof^a Dr^a Josiane de Campos Cruz
Universidade Federal da Paraíba

Prof Dr Thyago Moreira de Queiroz
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a Deus, cuja graça e orientação foram a luz que iluminou meu caminho. À minha família, fonte inesgotável de apoio, amor e inspiração. E a todos que estiveram ao meu lado, oferecendo ajuda, encorajamento e sabedoria, ao longo desta jornada, expresso minha sincera gratidão. Este trabalho é dedicado a vocês, que tornaram possível a realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho. Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela força, sabedoria e direção ao longo desta jornada acadêmica.

À minha orientadora Mariana Fernandes, pela orientação perspicaz, paciência e apoio constante. Suas dicas e contribuições foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha família, que sempre esteve ao meu lado com amor incondicional e encorajamento. Seu apoio foi o alicerce que sustentou cada passo deste percurso.

Agradeço também aos amigos e colegas, tanto do mestrado, como do LABMEX e da vida pessoal, que compartilharam seus conhecimentos, experiências e amizade ao longo desta trajetória acadêmica.

À Universidade Federal de Pernambuco e seus professores, pelos recursos, oportunidades de aprendizado e ambiente propício à pesquisa.

Por fim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para esta dissertação, meu sincero agradecimento. Este trabalho não seria possível sem a colaboração e apoio generoso de cada um de vocês.

“O conhecimento é o resultado não apenas da honestidade intelectual, mas também do esforço pessoal incansável.”

Albert Einstein

RESUMO

O consumo de alimentos obesogênicos aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio, causando estresse oxidativo e disfunção mitocondrial, podendo desencadear alterações metabólicas e processos patológicos. Dietas nutricionalmente inadequadas no período pré-natal e pós-natal podem ter consequências permanentes, mesmo em condições ambientais favoráveis posteriormente. Diante disso, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos de uma dieta obesogênica ofertada durante a gestação e lactação de ratas, no balanço REDOX, histomorfologia, expressão de genes inflamatórios e perfil de hormônios pancreáticos. A pesquisa foi conduzida com 16 ratas albinas fêmeas e 8 progenitores da linhagem Wistar, com aprovação da comissão de ética no uso de animais da UFPE (Processo nº 0061/2019). As ratas prenhas foram divididas em dois grupos, recebendo diferentes dietas: o Grupo Controle, alimentado com a dieta de biotério Nuvilab®, e o Grupo Obesogênico, que recebeu uma dieta com altos teores de gorduras e carboidratos. O acasalamento das ratas foi monitorado, e a prenhez foi confirmada por aumento de peso corporal e esfregaço vaginal. Durante a gestação e lactação foi analisado o peso corporal semanal, índice de Lee, teste oral de tolerância à glicose e insulina e após o período de lactação, foi feita a eutanásia dos animais e realizadas as análises de perfil bioquímico sanguíneo, biomarcadores de estresse oxidativo, avaliação do sistema antioxidante enzimático e não enzimático, histomorfometria pancreática, avaliação dos níveis séricos dos hormônios insulina e glucagon, além da avaliação da expressão de genes inflamatórios. A análise estatística foi feita utilizando o teste T de Student não pareado, considerando significativo $p < 0,05$. O peso corporal do grupo obesogênico aumentou significativamente ($p = 0,0002$), assim como o índice de Lee ($p = 0,0008$). Os níveis de estresse oxidativo foram elevados no grupo obesogênico, com maior quantidade de MDA ($p < 0,0001$) e carbonilas ($p < 0,0001$) em comparação com o grupo controle. A atividade antioxidante enzimática, especialmente da superóxido dismutase-SOD ($p < 0,0001$) e catalase-CAT ($p = 0,0004$), foi mais elevada no grupo obesogênico. Em relação ao estado REDOX celular foi vista uma diminuição no grupo obesogênico ($p = 0,0023$). As análises morfométricas do pâncreas revelaram aumento na área ($p < 0,0001$), perímetro ($p = 0,0002$) e diâmetro ($p < 0,0001$) nos animais obesogênicos, assim como na contagem de células por ilha ($p < 0,0001$). A expressão dos genes IL-6 ($p < 0,0001$) e TNF- α ($p < 0,0001$) também aumentaram no grupo obesogênico. Os Níveis séricos de insulina ($p = 0,0132$) e glucagon ($p = 0,0390$) apresentaram aumento no grupo obesogênico, bem como o teste oral de tolerância à glicose, após 120 minutos ($p = 0,0038$). Os resultados apresentados mostram que a dieta obesogênica, durante os períodos de gestação e lactação, influenciou negativamente o metabolismo pancreático das ratas, com diminuição da tolerância à glicose e aumento de biomarcadores de estresse oxidativo, no entanto foi vista uma maior atividade de enzimas antioxidantes como uma resposta metabólica positiva ao insulto nutricional. A expressão aumentada dos genes inflamatórios IL-6 e TNF- α , associada a alterações morfométricas pancreáticas reforçam a associação entre dieta obesogênica, inflamação e resistência insulínica.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica; estresse oxidativo; expressão gênica.

ABSTRACT

The consumption of obesogenic foods increases the production of reactive oxygen species, causing oxidative stress and mitochondrial dysfunction, which can trigger metabolic alterations and pathological processes. Nutritionally inadequate diets during the prenatal and postnatal periods can have permanent consequences, even under favorable environmental conditions later on. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of an obesogenic diet offered during pregnancy and lactation in rats on the REDOX balance, histomorphology, expression of inflammatory genes, and pancreatic hormone profile. The research was conducted with 16 female albino rats and 8 Wistar lineage progenitors, approved by the ethics committee for animal use at UFPE (Process no. 0061/2019). Pregnant rats were divided into two groups, receiving different diets: the Control Group, fed with Nuvilab® breeding diet, and the Obesogenic Group, which received a diet with high fat and carbohydrate content. Rat mating was monitored, and pregnancy was confirmed by increased body weight and vaginal smears. During gestation and lactation, weekly body weight, Lee index, oral glucose tolerance test, and insulin were analyzed, and after lactation, euthanasia of the animals was performed, and analyses of blood biochemical profile, oxidative stress biomarkers, evaluation of the enzymatic and non-enzymatic antioxidant system, pancreatic histomorphometry, evaluation of serum insulin and glucagon levels, and assessment of inflammatory gene expression were conducted. Statistical analysis was performed using unpaired Student's t-test, considering $p < 0.05$ significant. The body weight of the obesogenic group increased significantly ($p = 0.0002$), as well as the Lee index ($p = 0.0008$). Oxidative stress levels were elevated in the obesogenic group, with higher levels of MDA ($p < 0.0001$) and carbonyls ($p < 0.0001$) compared to the control group. Enzymatic antioxidant activity, especially superoxide dismutase-SOD ($p < 0.0001$) and catalase-CAT ($p = 0.0004$), was higher in the obesogenic group. A decrease in cellular REDOX state was observed in the obesogenic group ($p = 0.0023$). Pancreatic morphometric analyses revealed an increase in area ($p < 0.0001$), perimeter ($p = 0.0002$), and diameter ($p < 0.0001$) in obesogenic animals, as well as cell count per islet ($p < 0.0001$). Expression of IL-6 ($p < 0.0001$) and TNF- α ($p < 0.0001$) genes also increased in the obesogenic group. Serum levels of insulin ($p = 0.0132$) and glucagon ($p = 0.039$) showed an increase in the obesogenic group, as well as the oral glucose tolerance test after 120 minutes ($p = 0.0038$). The results presented show that the obesogenic diet during pregnancy and lactation negatively influenced the pancreatic metabolism of rats, with decreased glucose tolerance and increased oxidative stress biomarkers. However, a higher activity of antioxidant enzymes was observed as a positive metabolic response to nutritional insult. The increased expression of inflammatory genes IL-6 and TNF- α , associated with pancreatic morphometric changes, reinforces the association between obesogenic diet, inflammation, and insulin resistance.

Keywords: high-fat diet; oxidative stress; gene expression.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anatomia e histologia do pâncreas.....	20
Figura 2. Detalhes histológicos do pâncreas, indicando os ácinos pancreáticos, ilhota de Langerhans, células alfa, beta, delta e hemácias.....	23
Figura 3. Estresse oxidativo e sistema de defesa antioxidante enzimático em células renais diabéticas.....	24
Figura 4. Vias de formação de Espécies reativas de oxigênio (EROs).....	27
Figura 5. Análise comparativa do consumo de macronutrientes entre os grupos controle e obesogênico de ratas durante a gestação. A: Consumo de proteínas. B: Consumo de lipídeos. C: Consumo de carboidratos.....	43
Figura 6. Análise comparativa do consumo de macronutrientes entre os grupos controle e obesogênico de ratas durante a lactação. A: Consumo de proteínas. B: Consumo de lipídeos. C: Consumo de carboidratos.....	44
Figura 7. Análise comparativa dos níveis séricos de insulina (A) e glucagon (B) entre os grupos controle e obesogênico.....	45
Figura 8. Análise de quantificação dos biomarcadores de estresse oxidativo: malondealdeido-MDA, sulfidrilas e carbonilas.....	46
Figura 9. Análise da atividade do sistema antioxidante enzimático. (A) Atividade da Superoxido dismutase-SOD, (B) Atividade da catalase-CAT e (C) Atividade da Glutathione-S-transferase-GST.....	47
Figura 10. Análise do sistema antioxidante não enzimático. (A) Níveis de glutathione reduzida-GSH, (B) Níveis de glutathione oxidada-GSSG e (C) Estado REDOX celular.....	48

Figura 11.	Análise histomorfométrica das ilhotas de Langherans. A) Figura representativa de um corte histológico de ilhotas do grupo controle corado com HE; B) Figura representativa de um corte histológico de ilhotas do grupo obesogênico corado com HE; C) Área das ilhotas; D) Perímetro das ilhotas; E) Diâmetro das ilhotas	48
Figura 12.	Análise comparativa da expressão dos genes IL-6 e TNF entre os grupos controle e obesogênico.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.....	34
Tabela 2.	Sequência de primers utilizados nos ensaios de RT-PCR para a avaliação de genes inflamatórios em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação.	41

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina Trifosfato
CAT	Catalase
DNA	Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FAD	Flavina Adenina Dinucleotídeo
H₂O₂	Peróxido de Hidrogênio
GLP	Peptídeo tipo Glucagon
GPx	Glutathione Peroxidase
GRPP	Peptídeo Pancreático Relacionado com Glicentina
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidada
GST	Glutathione-S-Transferase
IMC	Índice de massa corporal
MDA	Malondialdeído
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NRG2	Fator nuclear 2 relacionado ao entróide 2
O₂	Oxigênio
RNA	Ácido Ribonucleico
SH	Sulfidrilas
SOD	Superóxido Dismutase.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Teoria da origem desenvolvimentista da saúde e da doença e períodos críticos do desenvolvimento	17
2.2 Dietas obesogênicas e doenças crônicas-metabólicas.....	19
2.3 Pâncreas: Estrutura, localização e suas divisões	20
2.4 Metabolismo pancreático e balanço REDOX	24
2.5 A Obesidade, Diabetes Gestacional, inflamação e estresse oxidativo.....	30
3 HIPÓTESE	32
4 OBJETIVOS.....	33
4.1 Objetivo geral.....	33
4.2 Objetivos Específicos.....	33
5 METODOLOGIA	34
5.1 Animais	34
5.2 Manipulação dietética e grupos experimentais.....	34
5.3 Consumo Alimentar	35
5.4 Coleta do tecido pancreático para posteriores análises e homogeneização da amostra	36
5.5 Dosagem de proteína	36
5.6 Peso corporal das ratas e do pâncreas	36
5.7 Teste Oral de Tolerância à glicose (TOTG), Teste Oral de Tolerância à Insulina (TOTI) e glicemia.....	37
5.8 Avaliação da peroxidação lipídica (Níveis de Malondialdeído-MDA).....	37
5.9 Avaliação dos níveis de oxidação de proteínas (Carbonilas)	38
5.10 Conteúdo de tióis totais (dosagem de sulfidrilas-SH).....	38
5.11 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD).....	38
5.12 Avaliação da Catalase (CAT).....	39
5.13 Avaliação da Glutathione-S-Transferase (GST).....	39
5.14 Avaliação dos níveis de glutathione reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e estado REDOX celular (razão GSH/GSSG).....	39
5.15 Histomorfometria dos pâncreas	40
5.16 Dosagem dos hormônios insulina e glucagon.....	40

5.17. Avaliação da expressão do mRNA	40
5.17.1 <i>Extração de RNA.....</i>	40
5.17.2 <i>Desenho das sequências dos “primers”.....</i>	41
5.17.3 <i>Avaliação da expressão genica por RT-PCR.....</i>	41
5.18 Análise Estatística	42
5.19 Aspectos éticos	42
6.1 Análise do consumo alimentar.....	43
6.2 Peso corporal e índice de Lee	44
6.3 Análise dos níveis séricos dos hormônios insulina e glucagon	45
6.4 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e insulina (TOTI).....	45
6.5 Análise da glicemia em jejum e do índice de HOMA	46
6.6 Análises dos biomarcadores de estresse oxidativo, atividade do sistema antioxidante enzimático e não enzimático	46
6.7 Análise histomorfométrica do pâncreas.....	48
6.8 Análise molecular	49
7 DISCUSSÃO	51
8 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS.....	57
ANEXO A - CARTA DE ACEITE DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE	66

1 INTRODUÇÃO

A teoria da origem desenvolvimentista da saúde e da doença sugere que as condições em que o indivíduo se desenvolve durante períodos críticos do desenvolvimento (gestação, lactação e primeira infância) podem afetar sua saúde ao longo da vida (Carmichael *et al.*, 2021). Atrelado a isso, a exposição a estressores ambientais durante esses períodos de desenvolvimento pode levar a alterações mal-adaptativas que aumentam o risco de doenças na vida adulta (Dolinoy *et al.*, 2018). Dessa forma, compreender como os períodos críticos do desenvolvimento podem afetar a saúde humana é essencial para a concepção de políticas públicas e prevenção de doenças, pensando no bem-estar do indivíduo (Heindel *et al.*, 2015).

Do ponto de vista do desenvolvimento fetal, observa-se a influência da dieta, bem como do estado de sobrepeso e obesidade da gestante, sobre a plasticidade fenotípica do feto. Essa fenomenologia se caracteriza como um mecanismo pelo qual a exposição a determinados fatores ambientais durante o período fetal e neonatal pode resultar em adaptações fisiológicas. Em mulheres que apresentam obesidade, as adaptações fisiológicas no feto estão relacionadas a um crescimento excessivo, provocado pelo aumento da resposta à insulina por parte da gestante, impactando assim o desenvolvimento inicial da placenta e a expressão genética (Catalano; Shankar, 2017).

A liberação de citocinas e hormônios placentários, conhecidos como hPL, são aumentados neste período, estabelecendo um diálogo que reduz a sensibilidade à insulina nos tecidos maternos, resultando em um subsequente aumento na disponibilidade de nutrientes. Esse fenômeno contribui, por conseguinte, para o crescimento fetal e a aumento de tecido adiposo (Catalano; Shankar, 2017). Este desfecho, influencia o risco de doenças crônicas-metabólicas, como obesidade, diabetes e hipertensão arterial para o feto; mas também pode ser responsável pela predisposição a doenças crônicas metabólicas (Burdge, 2021).

Mudanças nos padrões alimentares, a partir do século XX, caracterizadas pelo maior consumo de dietas com altos teores de gorduras e açúcares, e a diminuição da atividade física, são fatores importantes que contribuem para a obesidade, especialmente em países desenvolvidos (Ginter; Simko, 2021). Essa transição é caracterizada pelos fatores ambientais, ou seja, o acesso a alimentos hipercalóricos, ingestão de refeições com elevados níveis de gorduras e açúcares e alimentos com

menores valores nutricionais, que são intensificados na ausência de atividade física, contribuindo para o aumento de indivíduos com sobrepeso e obesidade (Jaacks; Slining; Popkin, 2015; Hruby *et al.*, 2016; Nurwanti *et al.*, 2018).

Vale ressaltar que dietas com alto teor de gordura inicialmente podem aumentar a secreção de insulina e diâmetro das ilhotas pancreáticas, como um mecanismo compensatório, mas eventualmente pode levar à ruptura das células beta e, conseqüentemente à diminuição da secreção de insulina (Cerf, 2013; Prentki; Nolan, 2019). Um estudo realizado por LEE *et al.* (2021), utilizando um modelo de dieta ocidentalizada (altos teores de gorduras e carboidratos refinados), evidenciou que esta exerceu influência sobre a expressão de genes relacionados à função pancreática em ratos, sugerindo que esse tipo de dieta pode alterar significativamente aumentando a expressão de vários genes no pâncreas, podendo afetar negativamente a função pancreática (Lee *et al.*, 2021).

A disfunção mitocondrial é um importante fator contribuinte para o desenvolvimento de doenças metabólicas associadas à dieta obesogênica. No pâncreas, a disfunção mitocondrial pode levar a uma redução na secreção de insulina e a um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), contribuindo para a patogênese do diabetes (Oliveira *et al.*, 2019).

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 podendo desencadear alterações metabólicas e processos patológicos (Singh *et al.*, 2016; Kang *et al.*, 2019). Evidências na literatura demonstram que uma dieta nutricionalmente inadequada nos períodos pré e pós-natal pode ter consequências permanentes, mesmo que posteriormente ocorram melhores condições ambientais e exposição a estímulos, inclusive nutricionais (Souza *et al.*, 2009).

Assim, o consumo de dietas obesogênicas estão associadas a diversas alterações no metabolismo de diferentes tecidos e sistemas biológicos, no entanto, ainda são escassos os estudos que avaliam as repercussões do consumo desse tipo de dieta durante períodos críticos do desenvolvimento e suas repercussões metabólicas. Diante disso, esse estudo tem a hipótese de avaliar os efeitos de uma dieta obesogênica, ofertada durante períodos críticos do desenvolvimento, causando alterações no balanço REDOX, na histomorfometria e no metabolismo pancreático de ratas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Teoria da origem desenvolvimentista da saúde e da doença e períodos críticos do desenvolvimento

A perspectiva desenvolvimentista da saúde e da doença é baseada na ideia de que o desenvolvimento humano é um processo contínuo, que começa na concepção e se estende por toda a vida. A abordagem desenvolvimentista enfatiza a importância das interações entre o indivíduo e o ambiente em moldar o desenvolvimento e a saúde ao longo do tempo (Ichim *et al.*, 2015). A teoria desenvolvimentista da saúde e da doença (DOHaD) argumenta que o estado de saúde ou doença de um indivíduo é o resultado de um processo contínuo de interação entre fatores biológicos, psicológicos e sociais. Esses fatores incluem, por exemplo, a genética do indivíduo, a exposição a doenças ou agentes patogênicos, o estilo de vida e o ambiente social em que ele está inserido (Ichim *et al.*, 2015).

O conceito desta teoria está intimamente ligado a susceptibilidade da plasticidade neural, na qual o desenvolvimento humano apresenta durante os períodos críticos do desenvolvimento que correspondem a gestação, lactação e primeira infância (Hübener; Bonhoeffer, 2014). Infere-se que o desenvolvimento humano não é linear, mas espera-se um padrão normal de desenvolvimento, e quando acontece algum tipo de injúria ou estresse nesses períodos críticos, ou mais sensíveis, o organismo sofre algum processo de reprogramação para adaptar-se aquela situação (Ichim *et al.*, 2015). A DOHaD enfatiza a importância dos períodos críticos do desenvolvimento na determinação da saúde e da susceptibilidade a doenças ao longo da vida. Assim, experiências precoces podem ter efeitos duradouros na saúde, no bem-estar e no desenvolvimento cognitivo, emocional e social das pessoas (Ichim *et al.*, 2015).

A importância da origem desenvolvimentista da saúde e da doença está em destacar a necessidade de investimentos em políticas e programas que apoiem o desenvolvimento saudável desde o início da vida. Isso inclui intervenções que promovam a nutrição adequada, o acesso a cuidados de saúde, a educação de qualidade, a segurança e a proteção contra situações de estresse e traumas, além da garantia de condições socioeconômicas favoráveis (Silveira *et al.*, 2007). A abordagem da origem desenvolvimentista da saúde e da doença também destaca a

importância de abordar as desigualdades sociais e econômicas que afetam o desenvolvimento infantil e a saúde ao longo da vida (Black *et al.*, 2017). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as desigualdades socioeconômicas contribuem para mais da metade das mortes prematuras e doenças em todo o mundo; e a promoção do desenvolvimento saudável nos primeiros anos de vida é uma das mais poderosas alavancas para melhorar a saúde e o bem-estar das pessoas, reduzir as desigualdades em saúde e alcançar um desenvolvimento sustentável (Lu *et al.*, 2019).

Esse conceito admite que os fatores ambientais inclusive a influência da saúde e alimentação materna são capazes de modular o desenvolvimento do organismo da prole (Silveira *et al.*, 2008; Gluckman; Hanson; Mitchell, 2010). É reconhecido que uma dieta inadequada em termos nutricionais tem um impacto significativo, especialmente durante o desenvolvimento do Sistema Nervoso Central e em todos os processos orgânicos controlados por ele. Muitas das consequências decorrentes desse desajuste, tanto durante o período pré-natal quanto pós-natal, podem ser duradouras, mesmo que a prole ou a mãe sejam posteriormente expostas a condições ambientais mais favoráveis e estímulos, incluindo aqueles relacionados à nutrição (Souza *et al.*, 2009).

A dieta materna durante a gravidez e lactação pode afetar o desenvolvimento fetal e infantil, incluindo o crescimento fetal, a maturação do sistema nervoso central, a função imunológica e o metabolismo. Estudos mostram que a desnutrição materna durante a gravidez e lactação pode levar a resultados adversos na saúde da prole, incluindo baixo peso ao nascer, retardo no crescimento, desenvolvimento cognitivo prejudicado e maior risco de doenças crônicas na idade adulta (Zheng *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2009). Além da desnutrição, a exposição a dietas com altos teores de gorduras ou açúcares durante a gravidez e lactação também pode ter efeitos negativos na saúde da prole, incluindo o aumento do risco de obesidade, resistência à insulina e doenças cardiovasculares (Gonzalez, 2015; Malta *et al.*, 2020).

A hipótese mais primitiva postulou o mecanismo do fenótipo poupador, onde, mediante a deficiência nutricional na gestação ou lactação, que são as fontes de substratos para o desenvolvimento orgânico, o organismo tende a adaptar-se privilegiando o desenvolvimento dos órgãos essenciais como o cérebro, em detrimento de outros tecidos, como os músculos e o pâncreas, incorrendo em deficiências estruturais e funcionais (Gonzalez, 2015). Contudo, essas explicações são

muito vagas para explicar todo um padrão alterado de funcionamento do organismo, que vai desde o baixo peso ao nascer, até padrões diferentes de resposta ao estresse e padrões de secreção hormonal em desequilíbrio, necessitando de mais estudos sobre o que ocorre em nível celular nesses indivíduos com o metabolismo alterado (Gluckman; Hanson; Mitchell, 2010; Souza *et al.*, 2009; Gonzalez, 2015).

A exposição pré-natal a dietas com altos teores de gordura pode afetar a programação do hipotálamo, levando a alterações na ingestão de alimentos e no metabolismo ao longo da vida (Li *et al.*, 2018). Além da dieta materna, outros fatores ambientais, como exposição a substâncias tóxicas ou síndromes durante a gravidez, também podem afetar o desenvolvimento fetal e infantil. Estudos em humanos e animais mostram que a exposição pré-natal ao estresse pode levar a resultados adversos na saúde da prole, incluindo baixo peso ao nascer, alterações na função cerebral e maior risco de doenças mentais e metabólicas na idade adulta (Pattyn *et al.*, 2018).

2.2 Dietas obesogênicas e doenças crônicas-metabólicas

Como já está bem estabelecido, a nutrição exerce papel crucial no desenvolvimento e manutenção do organismo e tratamento de doenças crônicas-metabólicas, ao passo que as dietas desbalanceadas estão descritas na literatura como fator ambiental importante no desenvolvimento dessas doenças (Geraldo; Alfenas, 2008). As dietas obesogênicas são caracterizadas pelo alto consumo de alimentos com altos teores de gorduras saturadas, açúcares refinados e calorias, e pela baixa ingestão de frutas, verduras e alimentos integrais. Esses tipos de dietas estão associados ao desenvolvimento de patologias, incluindo a obesidade, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (Haidari *et al.*, 2021).

Nesse contexto, a oferta de dietas obesogênicas tem sido utilizada em estudos de modelos experimentais na gênese da obesidade e síndrome metabólica, induzidas através do aumento do teor de lipídios da dieta (Duarte *et al.*, 2006). Em um estudo com modelo animal, foi visto que a dieta hiperlipídica é capaz de produzir distúrbios tanto no perfil lipídico, como na distribuição de tecido adiposo corporal e aumento do índice de massa corporal (IMC) (Pereira *et al.*, 2018). Os achados mais importantes, no trabalho de Duarte *et al.* (2006), revelam o aumento no tecido adiposo visceral, sendo o acúmulo de gordura na região abdominal apontada como fator fundamental ao

desenvolvimento de doenças metabólicas, como a resistência à insulina (Duarte *et al.*, 2006).

Esse padrão de consumo alimentar é uma das causas da resistência à insulina e da inflamação crônica, que são os principais fatores patogênicos das doenças metabólicas. Além disso, promove alterações no microbioma intestinal, no perfil lipídico e na homeostase da glicose, contribuindo para o desenvolvimento dessas doenças (Kolodziejczyk *et al.*, 2019). A dieta obesogênica é especialmente prejudicial em crianças e adolescentes, pois interfere no desenvolvimento do metabolismo e aumenta o risco de obesidade e doenças crônicas na idade adulta. É importante implementar estratégias eficazes para promover dietas saudáveis em jovens, a fim de prevenir essas doenças (Lobstein *et al.*, 2019).

Em recentes revisões sistemáticas e meta-análise, foi verificada a associação entre o consumo de alimentos com altos teores de açúcares, gorduras e energia ao impacto no estado de saúde em geral. Com a análise dos estudos, reafirmou-se a correlação desse consumo ao risco aumentado de sobrepeso e obesidade, circunferência da cintura elevada, níveis reduzidos de HDL e aumento do risco de síndrome metabólica, além de outras patologias (Askari *et al.*, 2020; Pagliai *et al.*, 2020). Os efeitos das dietas obesogênicas na saúde metabólica são mediados em parte pelo microbioma intestinal. Estudos mostram que as dietas com elevados teores de gorduras e açúcares alteram a composição do microbioma intestinal, levando a uma inflamação crônica e resistência à insulina. Essas alterações podem contribuir para o desenvolvimento de doenças metabólicas, incluindo diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (Santos-Marcos *et al.*, 2018).

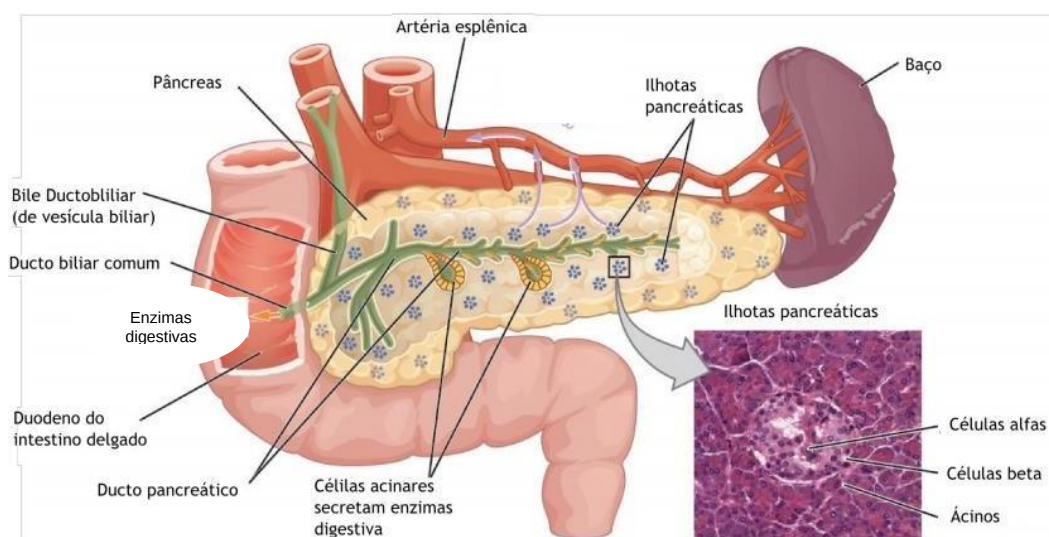
2.3 Pâncreas: Estrutura, localização e suas divisões

O pâncreas é um órgão glandular que se localiza na parte superior do abdômen, atrás do estômago e na frente da coluna vertebral. Pesa entre 60 e 170 gramas, e mede de 12 a 25 cm. Ele é dividido em três partes: cabeça, corpo e cauda. A cabeça do pâncreas é a parte mais larga e está localizada no lado direito do abdômen, próxima ao duodeno (a primeira parte do intestino delgado). O corpo do pâncreas é a seção central, enquanto a cauda é a parte mais estreita que se estende em direção ao baço, que fica ao lado esquerdo do abdômen (López-Cano *et al.*, 2018).

O pâncreas tem uma anatomia complexa, com uma porção endócrina e uma

porção exócrina (Figura 1). A porção endócrina é formada pelas ilhotas de Langerhans, pequenos agrupamentos de células que produzem hormônios como a insulina, o glucagon e a somatostatina. Esses hormônios são responsáveis por regular o metabolismo de açúcar e outros nutrientes no organismo. A porção exócrina, por sua vez, é formada por células que produzem enzimas digestivas que são secretadas no intestino delgado através de um ducto pancreático. Essas enzimas ajudam a quebrar os alimentos em moléculas menores para facilitar a absorção de nutrientes pelo organismo (Zhang *et al.*, 2022).

Figura 1. Anatomia e histologia do pâncreas.



Fonte: OpenStax College, 2019 (Adaptado).

Mais de 95% da massa pancreática corresponde a células exócrinas, agrupadas em lóbulos (ácinos). As células acinares sintetizam enzimas digestivas, em sua forma inativa, tais como amilases, proteases, lipases e nucleases. Posteriormente, essas enzimas são secretadas nos ductos pancreáticos e transportadas até o duodeno, onde são ativadas. As células dos ductos produzem mucina e fluidos ricos em bicarbonato, úteis na neutralização do conteúdo ácido estomacal. Elas são responsáveis pela digestão no intestino delgado. Os principais exemplos são a amilase pancreática (para carboidratos), lipase pancreática (para gordura), tripsinogênio e quimiotripsinogênio (para proteínas) (Hayakawa *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2017).

A função endócrina é desempenhada por aglomerados de células, dispersas no tecido acinar pancreático, denominados Ilhotas de Langerhans. O pâncreas adulto

normal, contém cerca de 1 milhão de ilhotas, o que constitui até 2% da massa pancreática. São distribuídas irregularmente pelo parênquima exócrino, mais densamente na região da cauda. Existem pelo menos 6 tipos de células pancreáticas descritas: α , δ , β , células PP (ou células Y), G e ϵ . Dessas as mais importantes e prevalentes são as células α e β . As células α correspondem a cerca de 15-20% das células das ilhotas. Localizam-se na periferia e sintetizam e secretam glucagon, glicentina, GRPP (peptídeo pancreático relacionado com glicentina), GLP 1 e GLP 2 (peptídeo tipo glucagon 1 e 2) (Huang *et al.*, 2023; Patel *et al.*, 2020).

Já as células β são as mais numerosas, correspondendo a aproximadamente 70 – 80% das células das ilhotas pancreáticas. Localizam-se no centro da ilhota (“medula”) e são responsáveis pela síntese e pela secreção, principalmente, da insulina e peptídeo C. Em menor escala, produzem amilina, também conhecida como IAPP (polipeptídeo amilóide das ilhotas), que é um antagonista insulínico, dentre outros peptídeos (Huang *et al.*, 2023; Patel *et al.*, 2020).

Insulina e glucagon são dois hormônios importantes envolvidos na regulação dos níveis de glicose no sangue. Eles são produzidos no pâncreas e têm efeitos opostos no corpo. A insulina é produzida pelas células beta do pâncreas e é liberada no sangue quando os níveis de glicose no sangue estão elevados, geralmente quando o indivíduo se encontra no estado alimentado. A insulina ajuda a regular a glicemia, fazendo com que as células do corpo absorvam glicose do sangue para utilização como energia ou armazenamento como glicogênio no fígado e nos músculos (Hendriksen *et al.*, 2019).

Esse hormônio também inibe a produção de glicose pelo fígado, mantendo os níveis de glicose plasmáticos nos níveis normais (inibindo a glicogenólise). Por outro lado, o glucagon é produzido pelas células alfa do pâncreas e é liberado no sangue quando os níveis de glicose no sangue estão baixos, por exemplo, quando o corpo precisa de energia após um período prolongado de jejum. O glucagon ajuda a elevar os níveis de glicose no sangue, estimulando a liberação de glicose armazenada no fígado (na forma de glicogênio, portanto, ativando a Glicogenólise) na corrente sanguínea; e também estimula a gliconeogênese hepática, aumentando ainda mais os níveis de glicose no sangue (Unger; Cherrington, 2019).

Quando os níveis de glicose no sangue estão elevados, a insulina é liberada para ajudar a diminuir a glicemia, enquanto que quando os níveis de glicose no sangue estão baixos, o glucagon é liberado para ajudar a aumentar a glicemia. No entanto,

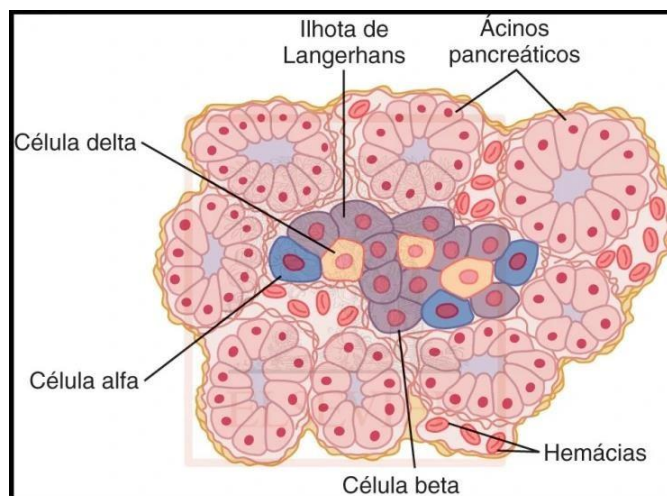
em algumas condições de saúde, como diabetes, a regulação dos níveis de glicose no sangue pode estar comprometida (Cryer *et al.*, 2013). Na diabetes tipo 1, as células do sistema imunológico (linfócitos T autoimunes) atacam e destroem as células beta produtoras de insulina no pâncreas, através de uma resposta autoimune (Hermanns *et al.*, 2014).

Esses linfócitos T atacam erroneamente as células beta produtoras de insulina das ilhotas pancreáticas, destruindo-as e levando à diminuição da produção de insulina pelo pâncreas. Acredita-se que esse processo seja desencadeado por uma combinação de fatores genéticos e ambientais, mas a causa exata ainda é desconhecida. Já na diabetes tipo 2, as células do corpo tornam-se resistentes à ação da insulina, o que leva a um aumento dos níveis de glicose no sangue. O tratamento da diabetes envolve a administração de insulina, no caso da diabetes tipo 1; ou medicamentos que ajudam a melhorar a ação da insulina no corpo, no caso da diabetes tipo 2 (Hermanns *et al.*, 2014).

Contudo, estudos sobre as alterações histomorfológicas de órgãos ligados as doenças crônico-metabólicas, a exemplo do pâncreas, em quadros de Diabetes Mellitus (DM) induzida por dietas hiperlipídicas são escassos merecendo maiores investigações (Guedes *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2006). A dieta hiperlipídica pode levar a alterações histológicas no pâncreas, incluindo inflamação, fibrose e lesões acinares. Essas alterações podem contribuir para o desenvolvimento de doenças pancreáticas, como pancreatite e câncer pancreático (Pandol *et al.*, 2019).

A dieta hiperlipídica pode causar alterações histomorfológicas no pâncreas, incluindo aumento do tamanho das ilhotas de Langerhans e do número de células β pancreáticas, bem como inflamação e fibrose (Figura 2). Essas alterações podem contribuir para o desenvolvimento da resistência à insulina e do diabetes tipo 2 (Rao *et al.*, 2018). A dieta hiperlipídica também pode levar ao acúmulo de lipídios no pâncreas, promovendo a inflamação e o estresse oxidativo. Esses processos podem levar à disfunção das células β pancreáticas e à redução da secreção de insulina, contribuindo para o desenvolvimento do diabetes tipo 2 (Selvi *et al.*, 2021). Além disso, a dieta hiperlipídica também pode afetar a composição da microbiota intestinal, promovendo o predomínio de bactérias patogênicas, as quais contribuem para o desenvolvimento de inflamação pancreática e disfunção das células β (Yuen *et al.*, 2018).

Figura 2. Detalhes histológicos do pâncreas, indicando os ácinos pancreáticos, ilhota de Langerhans, células alfa, beta, delta e hemácias.



Fonte: Guyton & Hall, 12 Ed, Elsevier, 2011.

2.4 Metabolismo pancreático e balanço REDOX

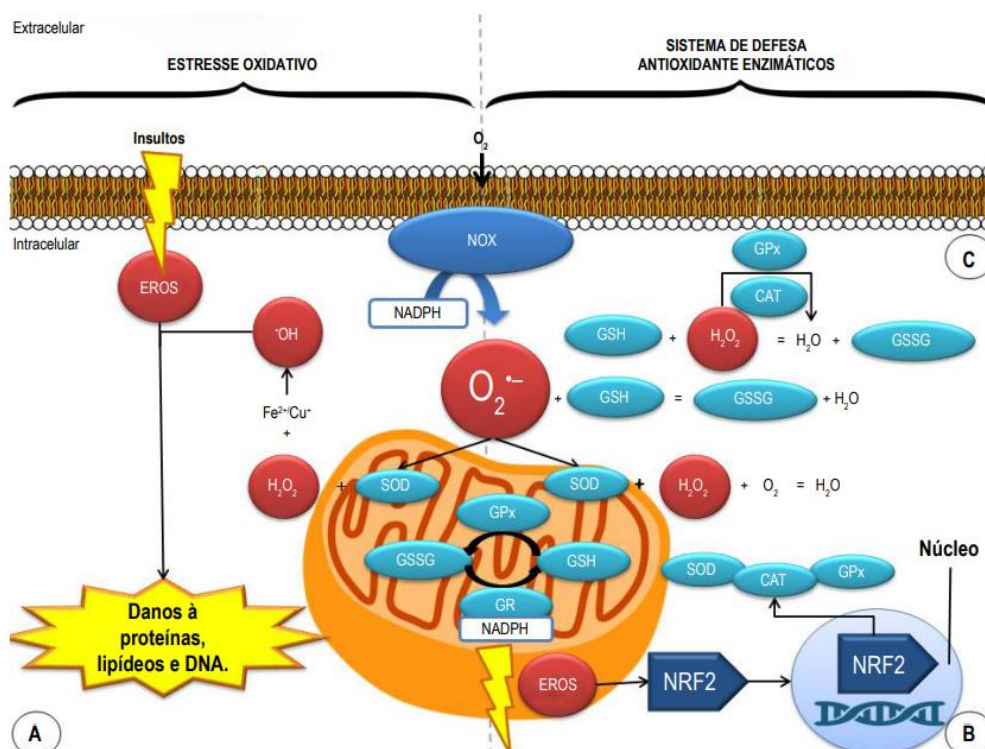
O desenvolvimento e manutenção de reações metabólicas e tecidos são regulados sob condições fisiológicas ideais (replicação celular, tamanho, eliminação apoptótica e outras fases), assim como a fisiopatologia de diversas doenças (Wang *et al.*, 2021). Por exemplo, os impactos na atividade compensatória de proliferação e apoptose de diversos tecidos, como as células pancreáticas secretoras de hormônios, já são conhecidos, mas os estudos de abordagem sobre os danos graduais até o estabelecimento de patologias, como a diabetes melito (DM) ainda precisam de maiores investigações (Oliveira *et al.*, 2019).

A exemplo, a quantidade excessiva de ácidos graxos na dieta, concorre para manutenção da obesidade, e aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs), que quando não combatidos pelos sistemas antioxidantes podem ocasionar um estado REDOX desequilibrado e estresse oxidativo às células (Wang *et al.*, 2021). Alguns estudos mostraram que o consumo excessivo de ácidos graxos saturados e trans estavam associados a um aumento do estresse oxidativo no organismo; e também apontou que pode levar ao surgimento de doenças (Oliveira *et al.*, 2019).

O balanço REDOX corresponde ao equilíbrio na regulação entre os estados pró-oxidativos e anti-oxidativos (Figura 3), onde diversos processos metabólicos concorrem para formação e remoção das espécies oxidativas no organismo, de forma a manter os níveis adequados para manutenção da fisiologia celular, estando

intimamente ligado a fatores dietéticos, que funcionam como substratos antioxidantes, como também ocasionam reações metabólicas (Guedes *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2011; Cao; Li; Mao, 2019). A maior fonte produtora dessas espécies reativas são as mitocôndrias.

Figura 3. Estresse oxidativo e sistema de defesa antioxidante enzimático em células renais diabéticas. CAT: catalase; EROS: espécies reativas de oxigênio; GPx: glutathione peroxidase; GSH: glutathione; GSSG: glutathione oxidada; GR: glutathione reduzida; H_2O_2 : peróxido de hidrogênio; NRG2: fator nuclear 2 relacionado ao entróide 2; O_2 : Oxigênio molecular; NOX: NADPH oxidase; $\text{O}_2^{\cdot-}$: ânion radical superóxido; $\text{OH}^{\cdot}$: radical hidroxila; SOD: superóxido dismutase.



Fonte: Souza *et al.* (2011).

A mitocôndria é uma organela presente em todas as células eucarióticas responsável por produzir a maior parte da energia necessária para as funções celulares. Essa produção de energia ocorre por meio da cadeia transportadora de elétrons, que é composta por vários complexos proteicos presentes na membrana interna da mitocôndria. O processo começa com a oxidação do NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido) e do FADH_2 (flavina adenina dinucleotídeo reduzido), que são produtos de outras vias metabólicas, liberando elétrons e prótons. Os elétrons são transferidos para o complexo I (NADH desidrogenase), que os transfere para o complexo III (citocromo bc1) e, em seguida, para o complexo IV (citocromo c oxidase). (Liang *et al.*, 2013; Brand; Nicholls, 2011).

Durante essa transferência de elétrons, prótons são bombeados da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar, gerando um gradiente eletroquímico de prótons que é utilizado para gerar ATP (adenosina trifosfato) por meio da ATP sintase. No entanto, durante a transferência de elétrons, alguns elétrons podem escapar do sistema e interagir com o oxigênio, gerando EROs, como o ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Essas EROs podem danificar proteínas, lipídios e DNA, levando a doenças e envelhecimento celular (Murphy, 2009; Turrens, 2003).

Para evitar danos celulares, a mitocôndria possui mecanismos de defesas antioxidantes, como a enzima superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase, que neutralizam as ROS geradas durante a cadeia transportadora de elétrons. Além disso, a mitocôndria também possui mecanismos de reparação de DNA e eliminação de proteínas danificadas para proteger as células contra o estresse oxidativo (Liang, 2013; Brand; Nicholls, 2011).

A SOD (Superóxido Dismutase), CAT (Catalase) e GST (Glutathione S-transferase) são enzimas antioxidantes encontradas em diferentes organelas e células do corpo humano que trabalham juntas para neutralizar espécies reativas de oxigênio (ROS) e prevenir danos oxidativos. A GPx, ou glutathione peroxidase, é uma enzima que converte peróxidos, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), em água utilizando glutathione reduzida (GSH) como substrato (Buonocore *et al.*, 2010). A SOD converte o superóxido, uma espécie altamente reativa de ROS, em peróxido de hidrogênio, que é menos tóxico. Existem três isoformas de SOD, que diferem em sua localização celular: a SOD1 é encontrada no citosol e nos núcleos celulares, a SOD2 está localizada nas mitocôndrias, e a SOD3 é encontrada no espaço extracelular (Murphy, 2009).

A CAT é encontrada principalmente no peroxissomo, uma organela celular que decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular. A CAT acelera essa reação, garantindo que o peróxido de hidrogênio não se acumule em concentrações tóxicas (Buonocore *et al.*, 2010). A GST é uma família de enzimas encontradas no citosol e no retículo endoplasmático, que se liga a produtos químicos tóxicos, como metabólitos do álcool e alguns medicamentos, para desintoxicá-los e torná-los solúveis em água para excreção. A GST também ajuda a manter o equilíbrio REDOX das células, impedindo que os radicais livres causem danos oxidativos (Valko *et al.*, 2005; Pisoschi; Pop, 2015).

A reação de GPx é uma importante via de eliminação de peróxidos e previne

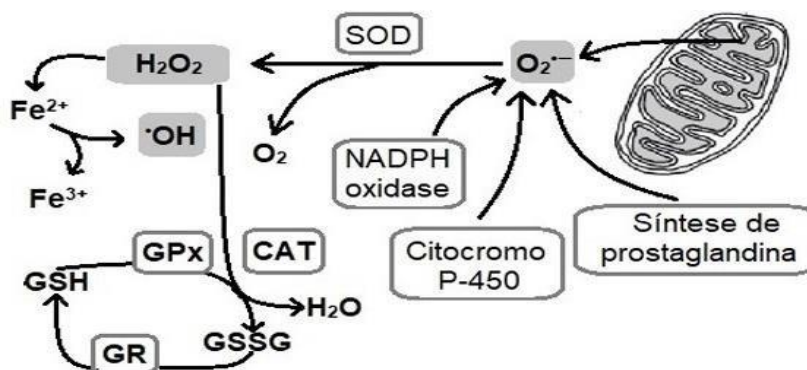
danos oxidativos em células. A GPx é encontrada em muitos tecidos do corpo, incluindo o fígado, cérebro e rins, e é encontrada em diferentes formas, com diferentes sequências de aminoácidos e funções (Figura 4). Algumas formas de GPx requerem selênio para sua atividade, como a GPx1, que é a forma mais comum de GPx encontrada nas células (Ursini *et al.*, 1982). A GPx utiliza GSH como substrato, que é oxidado para formar GSSG (glutathiona oxidada). A GSSG pode ser regenerada a GSH pela enzima glutathiona redutase (GR), que requer NADPH como cofator. Assim, a reação de GPx é conectada com a via de glutathiona, que é uma importante via antioxidante em células. Em conjunto, essas enzimas formam uma rede complexa de defesa antioxidante que ajuda a proteger as células e os tecidos do dano oxidativo e dos efeitos prejudiciais do estresse oxidativo (Liang, 2013; Brand; Nicholls, 2011).

Além das enzimas que compõe o sistema antioxidantes enzimático temos também o sistema antioxidante não enzimático, do qual participam as glutathionas reduzidas e oxidadas. As enzimas CAT e GPx agem com o mesmo propósito, ou seja, o de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio. Tal ação integrada é de grande importância, uma vez que essa espécie reativa, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, mediante a participação dos metais ferro e cobre, culmina na geração do radical $\text{OH}^\cdot$ contra o qual não há sistema enzimático de defesa (Welch *et al.*, 2022).

O referido radical ($\text{OH}^\cdot$) vem sendo indicado como o de maior potencial reativo e com extrema instabilidade (vida média de 10^{-9} segundos). Essas características os capacitam como o radical livre mais propício na produção de danos oxidativos. Além de ser o principal iniciador do processo de peroxidação lipídica, tendo como consequência a alteração da função biológica das membranas celulares, esse radical é capaz de agir sobre as proteínas, alterando-as em relação à sua estrutura e/ou função biológica. Seu ataque ao DNA possibilita a ocorrência de mutações (Schneider; Oliveira, 2020).

Considerando a potencialidade do radical $\text{OH}^\cdot$ e o fato da não existência de defesa enzimática especializada, é de extrema importância a manutenção do perfeito equilíbrio entre as enzimas antioxidantes, com o propósito de promover a manutenção da integralidade celular. Assim, a GPx merece atenção especial, uma vez que sua ação depende da manutenção do ciclo REDOX da glutathiona, por meio do controle da relação entre glutathiona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) (Welch *et al.*, 2022).

Figura 4. Vias de formação de EROs. As mitocôndrias são os maiores produtores de EROs intracelular.



Fonte: Fischer, 2019.

O desequilíbrio do balanço REDOX por sua vez é um fator fundamental na gênese de doenças crônico-metabólicas, onde existem numerosas evidências correlacionando níveis elevados dos marcadores de estresse oxidativo nos pacientes com comprometimento metabólico (Souza *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2021). Estudos recentes, conduzidos por Mafra *et al.* (2021) e Fakhruddin *et al.* (2021), evidenciaram que uma dieta com altos teores de gordura pode induzir estresse oxidativo e redução na secreção de insulina nas ilhotas pancreáticas de camundongos, sugerindo o papel do desequilíbrio REDOX na disfunção das células beta e no desenvolvimento do diabetes (Mafra *et al.*, 2021; Fakhruddin *et al.*, 2021).

Além disso, estas pesquisas investigaram o papel do desequilíbrio REDOX na regulação da enzima degradação de insulina (IDE) e no metabolismo da insulina. Os pesquisadores mostraram que a IDE é regulada pelo estresse oxidativo e que a disfunção da IDE pode contribuir para a resistência à insulina e ao diabetes (Mafra *et al.*, 2021; Fakhruddin *et al.*, 2021). No pâncreas, quadros de diabetes tipo II, hiperglicemia, hiperlipidemia e hipóxia, já vem sendo associados como preditores de desregulação do balanço oxidativo celular e aumento no quadro de estresse oxidativo pancreático, sobretudo nas células beta (Rao *et al.*, 2018).

As ilhotas de Langherans são bastante sensíveis a alterações nas concentrações de EROs intracelular, porém, o aumento de EROs no período embrionário já vem sendo descrito como um componente estimulando para regeneração e proliferação desse tipo celular (Liang *et al.*, 2013). Além disso, estudos com modelos *in vitro* de células Beta submetidas a H_2O_2 apresentaram um aumento na produção de insulina na presença de glicose basal, indicando que a EROs está

associada com o aumento da expressão de hormônios pelas células Beta (Sakai *et al.*, 2003).

No tecido pancreático, a exposição crônica ao estresse oxidativo pode levar à disfunção das células beta. O estresse oxidativo pode afetar a função mitocondrial, a sinalização intracelular, a expressão gênica e a sobrevivência das células beta, contribuindo para a progressão do diabetes mellitus (Sakai *et al.*, 2003). Além disso, o estresse oxidativo também pode afetar as células acinares, que são responsáveis pela produção de enzimas digestivas. A exposição crônica ao estresse oxidativo pode levar à morte celular das células acinares, contribuindo para a progressão da pancreatite crônica (Robertson, 2006).

Estudos têm investigado as vias de sinalização envolvidas na resposta ao estresse oxidativo no tecido pancreático e buscado terapias que possam proteger as células pancreáticas contra o dano oxidativo. Algumas estratégias incluem a administração de antioxidantes, a modulação da sinalização de estresse e a melhoria da função mitocondrial. A compreensão dos mecanismos envolvidos na exposição crônica ao estresse oxidativo no tecido pancreático é importante para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para as doenças pancreáticas (Navarro-Yepes *et al.*, 2014).

Portanto, a exposição crônica a elevados níveis de espécies reativas torna-se um grande problema para o metabolismo pancreático, uma vez que a expressão de enzimas antioxidantes é relativamente baixa no pâncreas em comparação a outros tecidos. Já é relatado na literatura que as células β pancreáticas expressam 50% da concentração de SOD quando comparados com as concentrações dos hepatócitos e ainda apresentam 5% de CAT e GPx quando submetidos a mesma comparação (Gurgul-Convey *et al.*, 2016).

Quando o sistema antioxidante não consegue combater o acúmulo excessivo de EROS é ativada a via da AMPK. A curto prazo essa via é importante por induzir a autofagia das células instáveis, aumentar a expressão de insulina, auxiliando na manutenção da célula (Wan *et al.*, 2018). Porém, a longo prazo, ela inibe a via da mTOR o que causa fechamento dos poros mitocondriais e ativação da quinase 1(ASK1) iniciando um processo de apoptose celular que pode se espalhar pelas ilhotas pancreáticas (Saxena *et al.*, 2010).

2.5 A Obesidade, Diabetes Gestacional, inflamação e estresse oxidativo

Conforme descrita pela Organização Mundial da Saúde (2001), a obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo ou anormal de gordura no tecido adiposo. Esta condição, reconhecida como uma "doença da gordura", está associada a uma inflamação sistêmica de baixo grau e específica do tecido, que tem uma relação causal com a resistência à insulina (PARRETTINI *et al.*, 2020) e com a incidência de doenças crônicas, como arteriosclerose e coronárias (Hotamisligil, 2016). Para a população ocidental, as diretrizes atuais definem a obesidade como um índice de massa corporal (IMC) superior a 30 kg/m² (Who, 2023).

A obesidade na gestação, juntamente com o ganho excessivo de peso, está ligada a uma conjunção de fatores pró-inflamatórios agravados e disfunção endotelial feto-placentária, que envolve um desequilíbrio, por exemplo, entre o óxido nítrico (NO) e endotelina-1. Esses fatores podem aumentar o risco de desenvolvimento de Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) nas mães. A obesidade durante a gestação, o aumento excessivo de peso e o DMG podem criar um estado de "meta-inflamação", caracterizando uma nova condição metabólica conhecida como "Diabetes Gestacional" (Pantham *et al.*, 2015; Cabalín *et al.*, 2019).

A Diabetes Gestacional, compartilha um substrato patogênico comum: a perturbação do equilíbrio entre as respostas fisiológicas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias durante a gravidez, resultando em uma resposta pró-inflamatória exacerbada. A elevação dos níveis de leptina e TNF- α , o estado de hipóxia, o estresse oxidativo anormal, a má adaptação vascular e a maior produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) contribuem para a resistência à insulina na vasculatura feto-placentária (Pardo *et al.*, 2019; Cabalín *et al.*, 2019).

Isso é acompanhado por níveis reduzidos de adiponectina e IL-10, além de um aumento na biodisponibilidade de NO. A nível sistêmico, ocorre uma desregulação do sistema imunológico, com a diminuição das células T regulatórias (Treg) e sua capacidade imunossupressora tolerogênica. Os marcadores mencionados, como TNF- α (fator de necrose tumoral alfa), IL-6 (interleucina 6), IL-10 (interleucina 10) e EROS (espécies reativas de oxigênio), desempenham papéis importantes nesses processos fisiopatológicos (Pantham *et al.*, 2015; Pardo *et al.*, 2019; Cabalín *et al.*, 2019).

Neste contexto, a inflamação é um aspecto relevante, devido sua função de homeostase do corpo, e fatores inflamatórios como quimiocinas, citocinas, eicosanóides e aminas biogênicas desempenham papel importante em diversos processos biológicos, desde alterações na temperatura corporal até respostas vasculares locais. A atividade do sinal inflamatório pode ser caracterizada em relação aos seus efeitos homeostáticos no corpo, em oposição à complexidade ou diversidade de suas funções (Hotamisligil, 2016).

Os marcadores TNF- α e IL6, em particular, estão envolvidos no processo inflamatório e são capazes de estimular ou inibir diretamente as funções de vários mecanismos homeostáticos que incluem a ativação da lipólise, a inibição da gliconeogênese e o aumento da permeabilidade vascular. O TNF- α , produzido principalmente por macrófagos, células T e células NK em resposta a infecções e lesões teciduais, regula a resposta inflamatória aguda estimulando a produção de outras citocinas pró-inflamatórias e mediadores da inflamação, ativando células endoteliais e facilitando a migração de leucócitos para o local da inflamação. Por outro lado, a IL-6, secretada por várias células, incluindo macrófagos, células T e células B, estimula a produção hepática de proteínas de fase aguda, como a proteína C reativa, envolvida na resposta imune e na modulação da inflamação, além de regular a diferenciação e proliferação de células T e B durante processos inflamatórios (Salvadó *et al.*, 2023).

Existem evidências substanciais que apontam para a interdependência entre angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) e estresse oxidativo, os quais desempenham papéis significativos nos processos de inflamação crônica. Estudos têm elucidado a natureza dessa interconexão, destacando o aumento da infiltração e proliferação celular, bem como os papéis sobrepostos de fatores reguladores de crescimento e citocinas (Jackson *et al.*, 2017). Morbidelli e colaboradores enfatizam a influência da inflamação crônica e do estresse oxidativo no desenvolvimento de fatores de risco cardiovascular, como hipertensão, dislipidemia e resistência à insulina. Eles ressaltam a importância de abordagens terapêuticas específicas para reduzir esses processos, a fim de mitigar os fatores de risco associados a doenças cardiovasculares (Morbidelli *et al.*, 2016).

3 HIPÓTESE

Uma dieta obesogênica, ofertada durante períodos críticos do desenvolvimento, causa alterações no balanço REDOX, na histomorfometria e no metabolismo pancreático de ratas.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de uma dieta obesogênica durante à gestação e lactação no balanço REDOX, histomorfometria e metabolismo pancreático de ratas.

4.2 Objetivos Específicos

Avaliar em ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação e lactação:

- Peso corporal dos animais, do pâncreas, consumo alimentar e avaliações murinométricas;
- Perfil bioquímico sanguíneo e teste oral de tolerância à glicose;
- Quantificação de biomarcadores de estresse oxidativo (níveis de malondealdeído-MDA, carbonilas e tióis totais-SH);
- Atividade do sistema antioxidante enzimático (superóxido dismutase- SOD, catalase-CAT e glutathione-S-transferase-GST);
- Sistema antioxidante não enzimático (glutathione reduzida-GSH, glutathione oxidada-GSSG e estado REDOX celular - razão GSH/GSSG);
- Histomorfometria pancreática;
- Níveis séricos dos hormônios insulina e glucagon;
- Avaliação da expressão de mRNA de genes inflamatórios (IL-6 e TNF α).

5 METODOLOGIA

5.1 Animais

Foram utilizadas 16 ratas albinas fêmeas e 8 progenitores da linhagem Wistar provenientes da colônia do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco. Depois de detectada a prenhez, as ratas foram divididas em dois grupos: Grupo controle (n=8) e grupo Obesogênico (n=8), de acordo com a dieta ofertada. Para as análises de avaliação do balanço REDOX, histomorfometria, expressão gênica e perfil de hormônios pancreáticos, um n de 8 animais por grupo foi suficiente, considerando o teste estatístico e os ensaios utilizados. Foram adotados alguns critérios para a escolha das ratas: não podiam ter parentesco familiar, possuir idade entre 90 e 120 dias, apresentar peso entre 220 e 250 gramas e serem nulíparas (Marcondes; Bianchi; Tanno, 2002).

Os animais foram mantidos em biotério de experimentação com temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro de 12/12 e livre acesso à água e alimentação. Para o acasalamento, foi realizado o monitoramento do ciclo estral das ratas através do esfregaço vaginal e no período estro, as fêmeas foram colocadas para acasalar na proporção duas fêmeas para cada macho. Para o diagnóstico do estado de prenhez, foi realizado o esfregaço vaginal e avaliação do aumento de peso corporal (Marcondes; Bianchi; Tanno, 2002).

5.2 Manipulação dietética e grupos experimentais

As ratas prenhas receberam, durante a gestação e lactação, dieta de biotério Nuvilab® (Grupo Controle, n=8 animais) ou dieta obesogênica (Grupo obesogênico, n=8 animais), com altos teores de gorduras e carboidratos conforme a Tabela 1. A dieta obesogênica apresenta alto teor em ácidos graxos saturados, adaptada a partir da composição da dieta utilizada no estudo de Ferro Cavalcante *et al.* (2013), com 31,5% da energia proveniente das gorduras, 19,6% das proteínas e 49,3% dos carboidratos, mais a oferta adicional de leite condensado (Italac®). As respectivas dietas foram ofertadas durante a gestação e lactação.

Tabela 1. Composição dos ingredientes utilizados na formulação das dietas obesogênicas experimentais.

Ingrediente em g por 100g de dieta	Nuvilab (g)	Dieta hiperlipídica (g)
Amido de milho	-	11,5
Farinha de trigo	-	12,0
Biscoito maisena	-	7,2
Farinha de soja	-	8,5
Banha de porco	-	5,5
Creme de leite	-	3,0
Margarina (65% lipídios)	-	3,5
Caseína (>85%)	-	20,0
Sacarose	-	20,0
Óleo de soja	-	4,0
Fibra (celulose)	-	0,3
Mineral mix	-	2,5
DL-metionina	-	0,3
Bitartarato de colina	-	0,25
BTH	-	0,0014
Cloreto de sódio	-	0,036
Total (g)	-	100,0
Kcal /100g	3,44	4,42
% Gorduras totais	11,0	31,5
% Proteínas	28,0	19,6
% Carboidratos	61,0	49,3

Fonte: Dieta de biotério Nuvilab®; Dieta hiperlipídica baseada no estudo de Ferro Cavalcante *et al.*, 2013; *O Mix Mineral é composto pelos seguintes reagentes (em mg/Kg de dieta): CaHPO₄, 17.200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO, 420; MgSO₄, 2000; Fe₂O₃, 120; FeSO₄.7H₂O, 200. (Ferro Cavalcante *et al.*, 2013).

5.3 Consumo Alimentar

O consumo alimentar (dieta e água) foi avaliado diariamente durante os períodos de gestação e lactação. A ração e o leite condensado foram mensurados pela diferença entre a quantidade ofertada e rejeitada, retirando o peso do pote em

relação ao leite condensado. A quantidade de ração controle foi padronizada em 100g, a ração obesogênica em 50g, e o leite condensado também em 50g. Foi utilizada uma balança eletrônica digital S– Marte, modelo S-1000, com capacidade máxima de 1000g e sensibilidade de 0,01g. O Consumo de água foi mensurando pela diferença entre o volume ofertado e rejeitado, utilizando uma proveta de vidro com capacidade de 1000 mL, com uma troca e reposição no valor de 700 ml de água a cada 3-4 dias.

5.4 Coleta do tecido pancreático para posteriores análises e homogeneização da amostra

Após serem eutanasiados e submetidos à cirurgia para a remoção do tecido, todos os pâncreas foram pesados e armazenados a uma temperatura de -80°C para análises futuras. O tecido pancreático 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 1.180 g, a 4° C, por 10 minutos, e os sobrenadantes foram submetidos à quantificação proteica.

5.5 Dosagem de proteína

A concentração de proteína do homogenato pancreático foi determinada pelo método de Bradford *et al.* (1976). Este se baseia na determinação da concentração de ligações peptídicas através da medida de absorbância do complexo proteína-corante (Bradford *et al.*, 1976). Este complexo absorve em comprimento de onda de 595 nm, usando a solução de albumina de soro bovino (BSA) a 2mg/mL como padrão.

5.6 Peso corporal das ratas e do pâncreas

O peso corporal foi avaliado semanalmente durante o período experimental (gestação e lactação). Foi utilizada uma balança eletrônica digital S– Marte, modelo S-1000, com capacidade máxima de 1000g e sensibilidade de 0,01g. Para a avaliação do percentual de ganho de peso, a fórmula utilizada foi: %GP= [peso do dia (g) x100/Peso do 1º dia (g)] -100 (Bayol *et al.*, 2004).

Foi avaliado o Índice de Lee como instrumento de uso simples e um ótimo método de previsão de ameaças cardíacas, sendo composto por seis fatores de riscos

cardiovasculares, conforme o avanço da idade e a sua aplicabilidade somente em cirurgias eletivas. Esse modelo classifica o paciente em quatro classes de risco, compostas por seis variáveis: classes I, II, III e IV são divididas a partir do somatório dessas variáveis analisadas, totalizando 0, 1, 2 ou ≥ 3 , respectivamente. Foi realizado a avaliação do peso corporal para comparação e avaliação do risco.

5.7 Teste Oral de Tolerância à glicose (TOTG), Teste Oral de Tolerância à Insulina (TOTI) e glicemia

Para avaliar o TOTG, as ratas foram submetidas a jejum durante a noite. O sangue foi coletado a partir de cortes na ponta da cauda do animal, sendo a primeira amostra de sangue coletada no tempo zero. Em seguida, uma solução de glicose a 50% (Equiplex Pharmaceutical Limited) foi administrada por via intraperitoneal, na dose de 2 mg/g de peso corporal. As amostras de sangue foram recolhidas aos 15, 30, 45, 60 e 120 minutos após a administração.

Para avaliar as concentrações de glicose no sangue das mães, foram utilizados kits colorimétricos da Labtest®, com amostras de soro para as dosagens. As amostras de sangue foram coletadas durante a eutanásia e condicionadas em tubos sem anticoagulante, sendo centrifugadas a 3500 RPM por 10 minutos para obtenção do soro. O sobrenadante foi coletado com auxílio de pipeta e transferido para um tubo Eppendorf, sendo encaminhado para as análises de glicose, utilizando os kits colorimétricos da Labtest®.

5.8 Avaliação da peroxidação lipídica (Níveis de Malondealdeído-MDA)

Para a dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi utilizada a técnica colorimétrica de Buege e Aust (1978) (Buege; Aust, 1978). As amostras (0,3 mg/mL 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 os resultados expressos como mM/ mg de proteína.

5.9 Avaliação dos níveis de oxidação de proteínas (Carbonilas)

Para a avaliação da oxidação de proteínas, utilizou-se a técnica de Zanatta *et al.* (2013) (Zanatta *et al.*, 2013). Com as amostras (0,3 mg/mL de proteína) em gelo, adicionou-se 30% (p/v) de TCA à amostra e, em seguida, centrifugou-se por 14 minutos a 1180 g. O sedimento foi ressuspense em 10mM de 2,4 dinitrofenilhidrazina e imediatamente incubado em um local escuro por 1 hora. Após isso, realizou-se a centrifugação três vezes em um tampão de acetato de etila, e o sedimento final foi ressuspense em 6M de cloridrato de guanidina. A absorbância foi lida a 370nm (37 °C) utilizando um espectrofotômetro visível Biochrom Libra S12 (Biochrom, EUA). Os resultados foram expressos como nmol/mg de proteína.

5.10 Conteúdo de tióis totais (dosagem de sulfidrilas-SH)

O conteúdo de sulfidrilas foi determinado a partir da reação com o composto DTNB (5,5'-ditiobis (2 ácido nitrobenzoílo). Uma alíquota do homogenato (0,2 mg/mL de proteína) foi incubada no escuro com 30 µL de DTNB 10mM, completando o volume final para 1 mL com tampão de extração. A leitura da absorbância foi realizada em um espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/ VISIBLE) a 412 nm. Os resultados foram expressos em µmol/mg de proteína.

5.11 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A determinação da atividade de SOD foi realizada conforme Misra e Fridovich (1972). Uma alíquota do homogenato pancreático (0,08 mg/mL de proteína) foi incubada no tampão carbonato de sódio (0,05%, pH 10.2, 0.1 mM de EDTA) em banho-maria a 37°C. A reação foi iniciada pela adição de 20µM de epinefrina (150 mM), em ácido acético (0,05%). A absorbância foi lida a 480nm por 3 minutos em um espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, EUA). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína, sendo uma unidade de SOD definida como a quantidade de proteína requerida para inibir a auto-oxidação de 1µmol de epinefrina por minuto.

5.12 Avaliação da Catalase (CAT)

A atividade de CAT foi realizada conforme Aebi (1984). Uma solução de H₂O₂ 0,3M (300 µL) foi adicionada à amostra (0,08 mg/mL de proteína), seguido pela adição do tampão fosfato 50mM, pH 7.0. A absorção de decaimento foi monitorizada por 4 minutos a 240nm em um espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, EUA). Uma unidade de catalase foi definida como a quantidade de proteína requerida para converter 1µmol de H₂O₂ em H₂O por minuto.

5.13 Avaliação da Glutathione-S-Transferase (GST)

Em uma cubeta de quartzo de 1 mL, a amostra (0,08 mg/mL de proteína), o tampão fosfato (0.1M), EDTA (1mM), GSH (1mM) e CDNB (1mM) foram adicionados. A absorbância (340nm) foi registrada por cerca de 3 minutos, a 30 °C em um espectrofotômetro (Biochrom Libra S12 Visible, EUA). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína, sendo uma unidade de atividade enzimática da GST definida como a quantidade necessária para catalisar a formação de 1µmol do composto DNP-SG por minuto (Habig; Pabst; Jakoby, 1974).

5.14 Avaliação dos níveis de glutathione reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e estado REDOX celular (razão GSH/GSSG)

Para avaliar os níveis de GSH, as amostras (0,1 mg/mL de proteína) foram diluídas em tampão fosfato 0,1 M contendo EDTA 5 mM, pH 8,0. Uma alíquota da amostra diluída foi incubada com o-Phthallaldeído (OPT) por 15 minutos. As intensidades de fluorescência foram medidas a 420 nm e excitação a 350 nm em um espectrofluorímetro (FLUOstar Omega - BMG Labtech, EUA), sendo 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 por 30 minutos em temperatura ambiente, seguido pela adição de tampão NaOH 0,1 M. Os mesmos passos do ensaio de GSH foram seguidos para determinar os níveis de GSSG. O estado REDOX foi determinado pela razão de GSH/GSSG, segundo o método de Hissin e Hilf (1976).

5.15 Histomorfometria dos pâncreas

Os pâncreas retirados foram conservados em formalina a 10% tamponada. Posteriormente, foram clivados e os fragmentos submetidos à rotina histológica, sendo emblocados em parafina. A partir desses blocos, os fragmentos foram cortados em micrótomo com cortes histológicos de 4mm de espessura, montados em lâminas e submetido a técnicas de coloração por Hematoxilina-Eosina (HE), para observação das características histológicas gerais. As ilhotas de Langherans foram avaliadas quanto à quantidade de células, comprimento celular, diâmetro das ilhotas e quantidade total. As análises foram realizadas no software ImageJ v.2.0.

5.16 Dosagem dos hormônios insulina e glucagon

Para a mensuração dos níveis de insulina e glucagon no soro, o teor de glucagon foi avaliado por quimioluminescência (Synergy H1, BioTek, EUA) a 460/20 nm, em duplicata, utilizando o kit de ELISA Glucagon Chemiluminescent (EZGLU-30K; Merck, Alemanha), com glucagon (padrão do kit) dissolvido em tampão de reação, e os níveis de insulina foram avaliados espectrofotometricamente (Synergy H1, BioTek, EUA), no plasma, a 560 nm, em duplicata, utilizando o kit de ELISA Rat/Mouse Insulin (EZRMI13K; Merck), com insulina (padrão do kit). O método utilizado para determinação da resistência à insulina (RI) e da capacidade funcional das células beta (BcC) foi o Índice de HOMA descrito por Matthews *et al.* (1985), pode ser calculado de duas maneiras: a estimativa da RI, na qual $HOMA-RI = \text{insulinemia de jejum (mU/L)} \times \text{glicemia de jejum (mmol/L)} / 22,5$; e a determinação da BcC, onde $HOMA-BcC = (20 \times \text{insulinemia de jejum [mU/L]} / (\text{glicemia de jejum [mmol/L]} - 3,5))$.

5.17. Avaliação da expressão do mRNA

5.17.1 Extração de RNA

O RNA total foi obtido pelo método de extração com isotiocianato de guanidina usando o reagente Trizol. Inicialmente os tecidos foram lisados usando 1 mL do Trizol, depois de 5 minutos de incubação, à temperatura ambiente, será acrescentado 200µl de clorofórmio os tubos e centrifugados a 12000 g por 15 minutos. A fase aquosa foi transferida a outro tubo, adicionado de isopropanol gelado e depois incubou por 10

minutos à temperatura ambiente e centrifuga-se novamente a 12000 g por 10 minutos. O RNA formado foi então lavado com etanol a 75% e centrifugado a 7000 g por 5 minutos. Retira-se o sobrenadante e deixa o RNA secar ao ar por pouco tempo (Lagranha *et al.*, 2007).

O sedimento de RNA foi então ressuspenso em água livre de RNase, em alíquotas e armazenado. A quantificação do RNA foi realizada em duplicata, diluindo as amostras 1:150 em água isenta de RNase. A absorbância da amostra foi determinada por espectrofotometria nos comprimentos de onda de 260 nm (correspondente ao pico de absorção de RNA) e 280 nm (correspondente ao pico de absorção de proteínas). Para a análise da pureza do RNA, o valor da absorbância obtido a 260 nm foi dividido pelo obtido a 280 nm e a amostra que apresentar a razão 260/280 igual ou superior a 1.8, foi utilizada (indicativo alto grau de pureza) (Lagranha *et al.*, 2007).

5.17.2 Desenho das sequências dos “primers”

As sequências dos *primers* foram obtidas utilizando o programa “Primer- BLAST” a partir das sequências completas dos genes, através das informações contidas no banco genético do National Center for Biotechnology Information (NCBI) acesso via internet a partir do número de acesso para cada gene. As sequências de *primers* desenhadas para a realização da RT-PCR estão descritas na tabela 2.

Tabela 2. Sequência de primers utilizados nos ensaios de RT-PCR para a avaliação dos genes expressos em ratas gestantes e lactantes em uma dieta obesogênica.

Gene	Forward <i>primer</i> (5'-3')	Reverse <i>primer</i> (5'-3')
TFAM	TCT CAT GAT GAAAAG CAG GCA	GAG ATC ACT TCG CCC AAC TT
TNF- α	AAG CAT GAT CCG AGA TGT GG	AGT AGA CAG AAG AGC GTG GT
IL-6	AAG GAG TGG CTA AGG ACC AA	GTT TGC CGA GTA GAC CTC AT
PGC1- α	AAC AGC AAA AGC CAC AAA GA	AAG TTG TTG GTT TGG CTT GA

5.17.3 Avaliação da expressão genica por RT-PCR

As reações foram realizadas para cada grupo de “primers” e todos os

parâmetros foram avaliados utilizando concentrações constantes de RNA e seguindo as normas do fabricante do Kit SuperScriptIII® SYBR® GREEN One-Step qRT-PCR (Invitrogen, USA). Usando também a expressão do gene B2M como o gene normalizador para cada amostra e a quantificação da expressão foi de acordo com o cálculo de $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak; Schmittgen, 2001).

5.18 Análise Estatística

Os dados foram apresentados em média e erro padrão da média. Para a comparação entre os dois grupos, utilizou-se o teste T de Student não pareado. O nível de significância foi considerado quando $p < 0,05$. Para a elaboração dos gráficos e tratamento dos dados estatísticos, empregou-se o software GRAPH PAD PRISM versão 8.0.2 para Windows.

5.19 Aspectos éticos

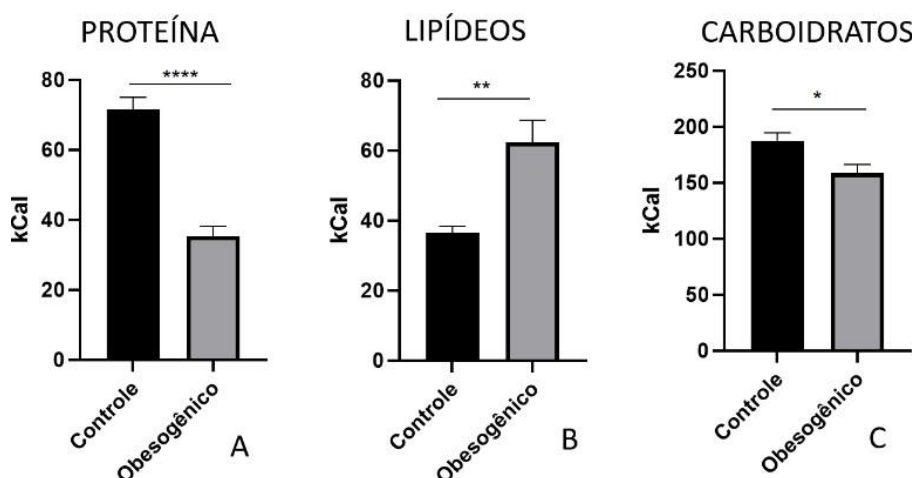
Conforme determina a Lei Federal nº 6.638/1979 e o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), este projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, e aprovado como 0061/2019 (ANEXO A). Conforme a mesma legislação, o cálculo amostral e seleção de animais concorreram para o uso mínimo de vidas que seja suficiente para executar o teste da hipótese.

6 RESULTADOS

6.1 Análise do consumo alimentar

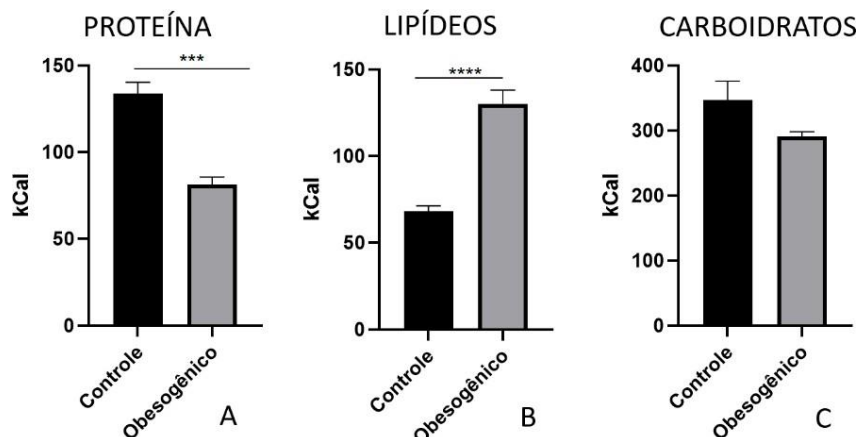
Na análise comparativa do consumo alimentar de macronutrientes, entre os grupos controle e obesogênico, foi observada uma diminuição no consumo de proteínas (50,54%; p-valor < 0,0001; t = 8,052; diferença entre médias (DM) = $-36,13 \pm 4,487$) (Figura 5A) e carboidratos (15,39%; p-valor = 0,0221; t = 2,830; DM = $-28,84 \pm 10,19$) (Figura 5C) e um aumento no consumo de lipídeos (70,67%; p-valor = 0,004; t = 3,984; DM = $25,83 \pm 6,483$) (Figura 5B) das ratas alimentadas com dieta obesogênica durante a gestação, em comparação com o grupo controle.

Figura 5. Análise comparativa do consumo de macronutrientes entre os grupos controle e obesogênico de ratas durante a gestação. A: Consumo de proteínas; B: Consumo de lipídeos; C: Consumo de carboidratos. n=5 animais por grupo. ****p<0,0001; **p= 0,004; *p= 0,0221.



Na comparação do consumo alimentar de macronutrientes entre os grupos controle e obesogênico de ratas em período de lactação, foi observada uma diminuição no consumo de proteínas (39,19%; p-valor = 0,0002; t = 6,596; DM = $-52,40 \pm 7,944$) (Figura 6A) e aumento no de lipídeos (91,32%; p<0,0001; t=7,974; DM = $62,13 \pm 7,792$) no grupo obesogênico (Figura 6B). Não foi observada diferença significativa no consumo de carboidratos entre os grupos (p-valor = 0,0980; t = 1,872; DM = $-55,95 \pm 29,88$) (Figura 6C).

Figura 6. Análise comparativa do consumo de macronutrientes entre os grupos controle e obesogênico de ratas durante a lactação. A: Consumo de proteínas; B: Consumo de lipídeos; C: Consumo de carboidratos. n=5 animais por grupo. ****p<0,0001; ***p= 0,002.



Também foi observada uma diferença no consumo total de ração entre os grupos de ratas gestantes, sendo menor (5,34%, p-valor = 0,0448; t = 2,377; DM = -39,14 ± 16,47) no grupo obesogênico. Na comparação dos grupos de ratas lactantes não foi observada diferença significativa no consumo total de ração (p-valor = 0,5299; t = 0,6566; DM = -29,29 ± 44,61).

Na comparação relacionada ao consumo de água, foi observada diminuição tanto em ratas gestantes (31,31%; p-valor = 0,0003; t = 4,116; DM = -18,12 ± 4,402) quanto nas lactantes (35,11% ;p-valor = 0,0001; t = 4,493; DM = -28,59 ± 6,363), nos grupos obesogênicos.

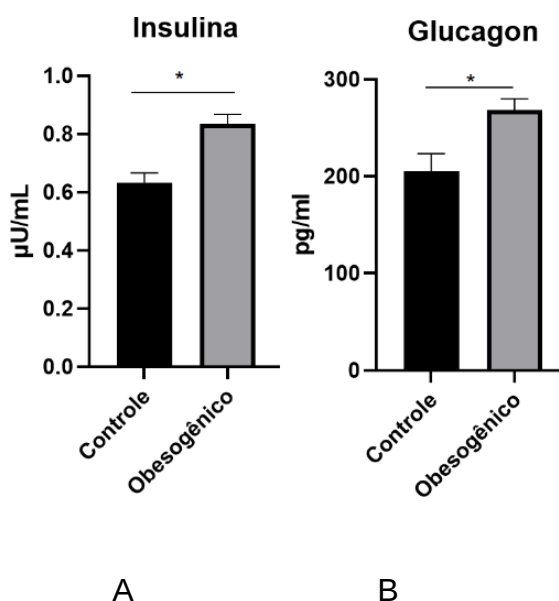
6.2 Peso corporal e índice de Lee

Na comparação do peso corporal entre os animais dos dois grupos, foi observado um aumento no peso das ratas do grupo obesogênico (19,6%; p-valor = 0,0002; t = 6,607; DM = 49,00 ± 7,416; n=5 animais por grupo). Em relação ao índice de Lee, também foi observado um aumento de massa gorda no grupo obesogênico (6,58%; p-valor = 0,0008; t = 5,248; DM = 19,16 ± 3,650; n=5 animais por grupo).

6.3 Análise dos níveis séricos dos hormônios insulina e glucagon

Foi observado um aumento nos níveis séricos de insulina (31,58%; p-valor = 0,0132; $t = 4,243$; $DM = 0,2000 \pm 0,04714$) e glucagon (30,81%; p-valor = 0,0390; $t = 2,414$; $DM = 63,11 \pm 26,14$) nos grupos obesogênicos (Figura 6).

Figura 7. Análise comparativa dos níveis séricos de insulina (A) e glucagon (B) entre os grupos controle e obesogênico. $n=5-7$ animais por grupo. (A) $*p= 0,0132$; (B) $*p= 0,0390$.



6.4 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e insulina (TOTI)

No teste oral de tolerância à glicose, foi observado um aumento significativo entre as amostras de sangue dos dois grupos, colhidas após 120 minutos da administração da solução de glicose a 50%, indicando aumento (13,42%; p-valor = 0,0038; $t = 4,254$; $DM = 12,85 \pm 3,021$; $n=5$ animais por grupo) nas ratas obesogênicas.

Em relação ao teste oral de tolerância à insulina, foi observada uma diminuição, após 45 minutos da administração da insulina (27%; p-valor = 0,0133; $t = 3,167$; $DM = -7,400 \pm 2,337$) e aumento aos 60 minutos (28%; p-valor = 0,00497; $t = 2,309$; $DM = 6,400 \pm 2,771$) no grupo obesogênico; $n=5-6$ animais por grupo).

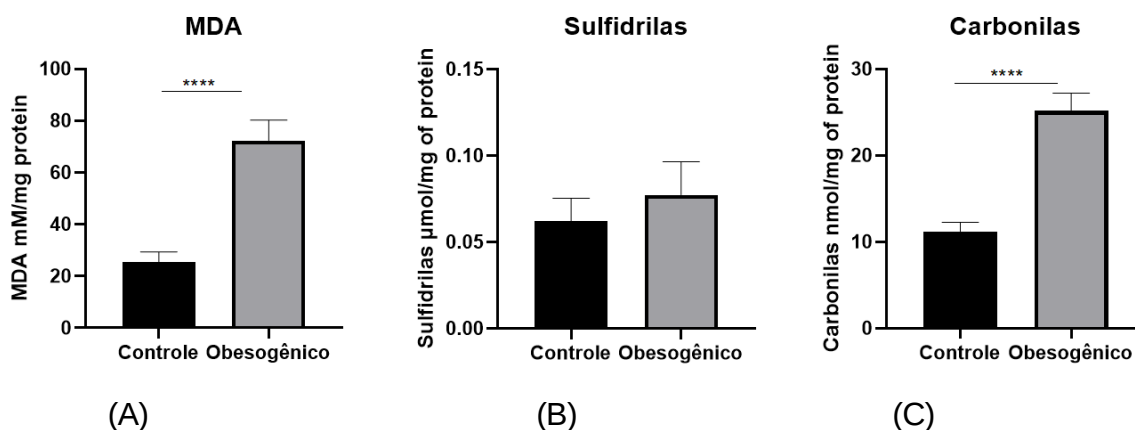
6.5 Análise da glicemia em jejum e do índice de HOMA

Foi observado um aumento nos níveis séricos de glicose de jejum (40,07%; p-valor = 0,0025; $t = 6,726$; $DM = 32,33 \pm 4,807$; $n=5$ animais por grupo) nas ratas alimentadas com dieta obesogênica. Com base nos resultados de glicemia de jejum e dosagem de insulina foi realizada a análise do índice de HOMA. Na comparação do índice de HOMA-IR dos grupos, foi observada uma maior resistência insulínica (35%; p-valor = 0,0063; $t = 5,249$; $DM = 1,913 \pm 0,3644$) e no índice de HOMA- β , uma maior capacidade de secreção de insulina pelas células beta pancreáticas (45%; p-valor = 0,0091; $t = 4,727$; $DM = -0,01198 \pm 0,0002534$) no grupo obesogênico ($n=3-5$ animais por grupo).

6.6 Análises dos biomarcadores de estresse oxidativo, atividade do sistema antioxidante enzimático e não enzimático

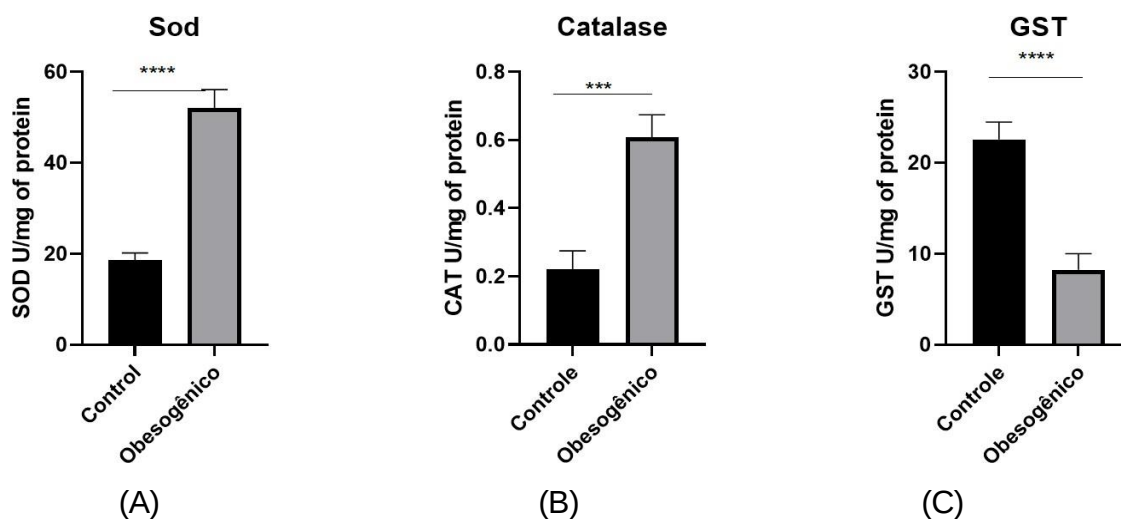
Na análise de quantificação de biomarcadores de estresse oxidativo foi observado um aumento níveis de carbonilas (127,96%; p-valor<0,0001; $t = 5,675$; $DM = 15,23 \pm 2,684$) no grupo obesogênico. O mesmo padrão de aumento foi observado em relação aos níveis de malondialdeído-MDA (176,03%; p-valor<0,0001; $t = 5,408$; $DM = 48,80 \pm 9,022$). Na comparação entre os níveis de sulfidrilas não foi observada diferença significativa entre os grupos (p-valor = 0,5719; $t = 0,5752$; $DM = 0,01296 \pm 0,02254$) (Figura 8).

Figura 8. Análise de quantificação dos biomarcadores de estresse oxidativo: malondealdeído-MDA, sulfidrilas e carbonilas. $N=6$ animais por grupo, ****p<0,0001



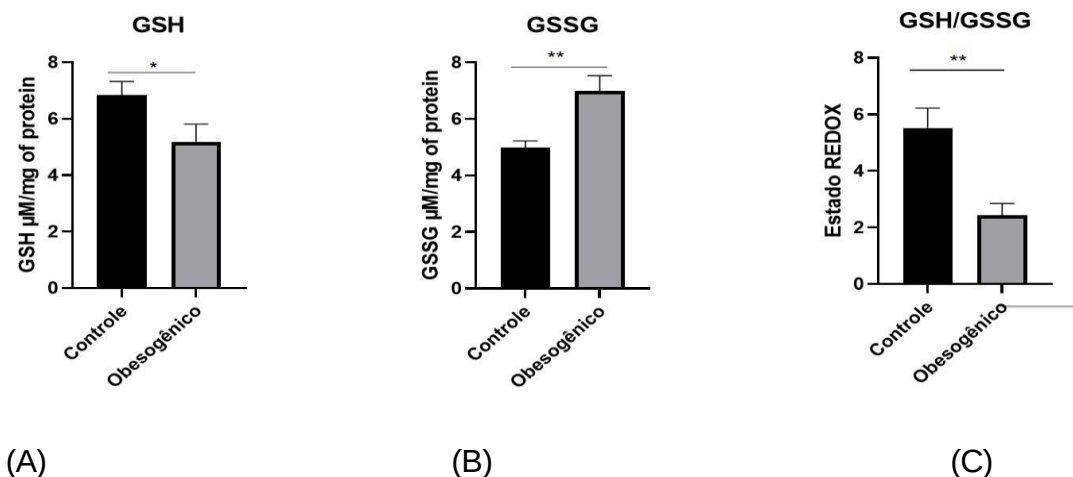
Na avaliação da atividade do sistema antioxidante enzimático, na superóxido dismutase (SOD) foi observado um aumento de sua atividade no grupo obesogênico (170,12%; p-valor<0,0001; t = 6,906; DM = $32,62 \pm 4,724$). Em relação a atividade da catalase (CAT), também foi observado um aumento nas ratas obesogênicas (163,86%; p-valor = 0,0004; t = 4,466; DM = $0,4073 \pm 0,09121$). No entanto, no que se refere a glutathiona-S-transferase-GST foi observada diminuição de sua atividade no grupo obesogênico (66,13%; p-valor<0,0001; t = 5,154; DM = $-13,69 \pm 2,657$) (Figura 9).

Figura 9. Análise da atividade do sistema antioxidante enzimático. (A) Atividade da Superoxido dismutase-SOD, (B) Atividade da catalase-CAT e (C) Atividade da Glutathiona-S-transferase-GST. n=6 animais por grupo. ***p=0,0004; ****p<0,0001.



Nas análises relacionadas ao sistema antioxidante não enzimático, foi observada diminuição dos níveis de glutathiona reduzida-GSH (29,44%; p-valor = 0,0284; t = 2,384; DM = $-1,896 \pm 0,7953$) e aumento de glutathiona oxidada-GSSG (46,27%; p-valor = 0,0028; t = 3,490; DM = $1,924 \pm 0,5514$) nas ratas obesogênicas. O estado REDOX celular (razão GSH/GSSG) apresentou-se bastante reduzido (17,31%; p-valor = 0,0023; t = 3,610; DM = $-3,151 \pm 0,8729$) nos animais que receberam dieta obesogênica (Figura 10).

Figura 10. Análise do sistema antioxidante não enzimático. (A) Níveis de glutathiona reduzida-GSH, (B) Níveis de glutathiona oxidada-GSSG e (C) Estado REDOX celular. N= 6 animais por grupo. *p=0,0284; **p=0,0028; **p=0,0023

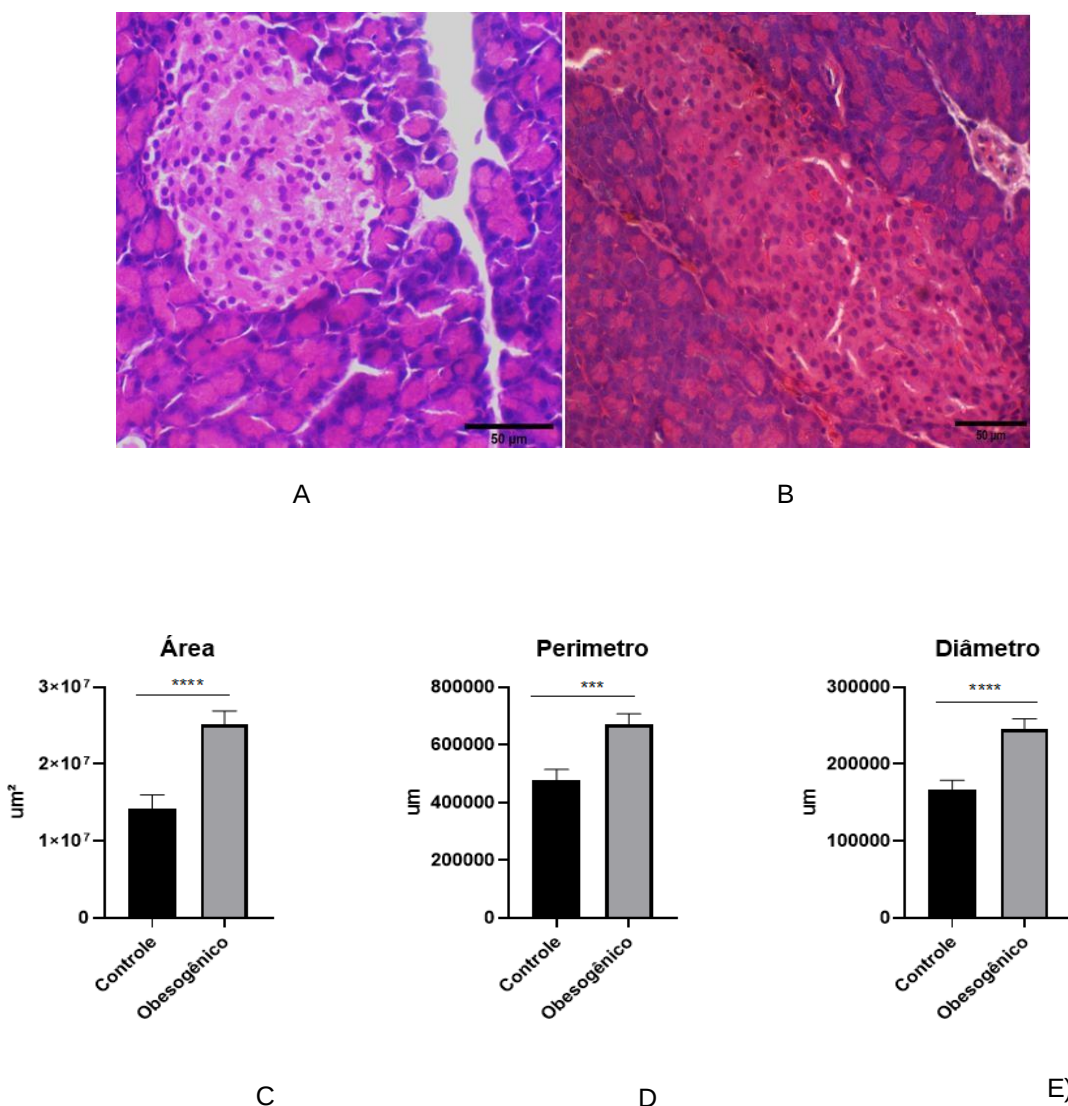


6.7 Análise histomorfométrica do pâncreas

Na avaliação histomorfométrica das ilhotas de Langerhans de animais do grupo controle e obesogênico, com 5 animais em cada grupo, foram observados aumentos na área (76,19%; p-valor<0,0001; t = 4,284; DM = 10859313 ± 2534667), perímetro (40,44%; p-valor = 0,0002; t = 3,882; DM = 193852 ± 49936) e diâmetro das ilhotas pancreáticas (47,19%; p-valor<0,0001; t = 4,478; DM = 78948 ± 17629) das ratas alimentadas com dieta obesogênica (Figura 11), onde também houve aumento da quantidade de aumento linfocitário, na lâmina (224,47%; p-valor = 0,0078; t = 3,187; DM = 85,29 ± 26,76).

Em relação ao número de células foi observado um aumento do número de células por ilhota (141,39%; p-valor<0,0001; t = 5,726; DM = 261,3 ± 45,63) e na análise de dois grid's (quantidade de células/0,08mm²) dos ácinos (21,93%; p-valor<0,0001; t = 6,974; DM = 6,898 ± 0,9892) no grupo de animais obesogênicos. O diâmetro apresentado nos ácinos desses animais também foi maior em comparação com o grupo controle (6,82%; p-valor = 0,0059; t = 2,771; DM = 3073 ± 1109). Já em relação a área (p-valor = 0,2148; t = 1,243; DM = 46286 ± 37224) e ao perímetro (p-valor = 0,0779; t = 1,768; DM = 4690 ± 2652) dos ácinos, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos.

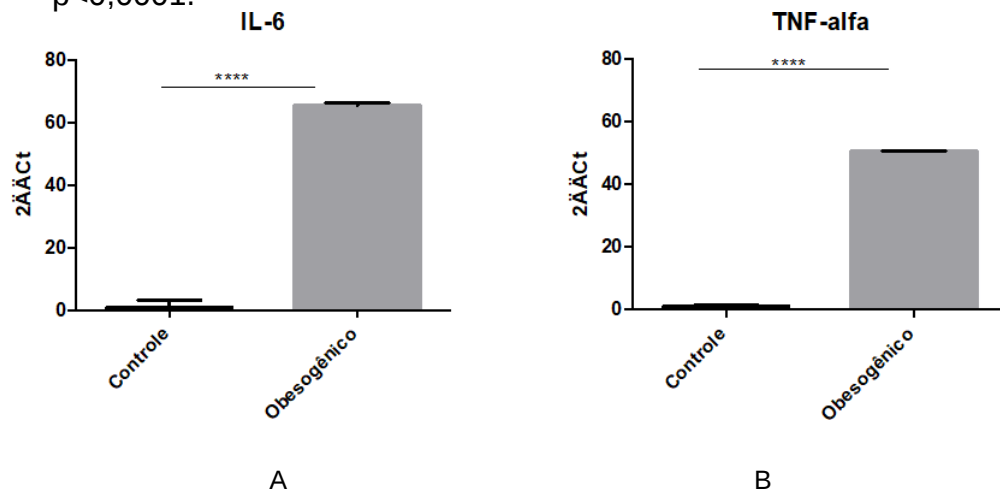
Figura 11. Análise histomorfométrica das ilhotas de Langherans. A) Figura representativa de um corte histológico de ilhotas do grupo controle corado com HE; B) Figura representativa de um corte histológico de ilhotas do grupo obesogênico corado com HE; C) Área das ilhotas; D) Perímetro das ilhotas; E) Diâmetro das ilhotas. Para as análises quantitativas foram avaliados 5 animais por grupo. **** $p < 0,0001$; *** $p = 0,0002$



6.8 Análise molecular

Nas análises moleculares de expressão de mRNA de genes relacionados a inflamação, foi observado um aumento na expressão dos genes IL-6 (6,5 vezes; p -valor $< 0,0001$; $t = 27,18$; DM = $64,60 \pm 2,377$) e TNF- α (5 vezes; p -valor $< 0,0001$; $t = 144,7$; DM = $49,68 \pm 0,3433$) nos grupos obesogênicos, quando comparados com os grupos controle (Figura 12).

Figura 12. Análise comparativa da expressão dos genes IL-6 e TNF entre os grupos controle e obesogênico. N=3 animais por grupo. ****p<0,0001.



7 DISCUSSÃO

O estudo do balanço REDOX e do metabolismo pancreático de ratas em período de gestação e lactação evidenciou uma predileção desses animais por alimentos lipídicos. Em associação a esses dados, foi observado como consequência dessa alimentação, um aumento significativo no peso das ratas, bem como aumento do índice de Lee. O estudo de Malafaia *et al.* (2013) avaliou o ganho de massa gorda, através do uso do índice de Lee, em ratos da linhagem Wistar, comparando o grupo controle, alimentado com ração de biotério e o grupo experimental, em que os animais receberam a mesma ração associada à adição de sacarose, e não identificaram aumento de peso significativo entre os grupos (Malafaia *et al.*, 2013).

Outro estudo que comparou o efeito da sacarina e sacarose na ingestão alimentar e no peso corporal de ratos Wistar, indicou que a suplementação com sacarose (12 semanas) promoveu menor ganho de peso, enquanto que o grupo suplementado com sacarina apresentou um ganho de peso semelhante ao grupo alimentado com iogurte puro. O menor ganho de peso está associado a um menor consumo de ração, sugerindo maior saciedade no grupo Sacarose (Feijó, 2010).

Os resultados do estudo em questão são corroborados por esses achados, indicando uma correlação entre a obesidade e o controle do consumo de água em ratas prenhes. Além disso, a pesquisa do Parreira *et al.* (2017), investigou o impacto da restrição hídrica no metabolismo pancreático em ratas que não estavam grávidas, revelando alterações notáveis na função pancreática devido à ingestão limitada de água (Parreira *et al.*, 2017). Embora este estudo específico não se refira diretamente à gravidez e à lactação, oferece conhecimentos valiosos sobre os potenciais mecanismos através dos quais o consumo de água pode afetar o metabolismo pancreático, o que poderia ser aplicável na compreensão dos resultados do estudo em questão.

A importância da ingestão de água na regulação metabólica, particularmente durante fases fisiológicas cruciais como a gravidez e a lactação, é um ponto chave que merece atenção. Apesar das diferenças nas abordagens de investigação e nos modelos animais utilizados conforme o estudo de Rangel *et al.* (2018), os resultados enfatizam consistentemente o papel do consumo de água (Rangel *et al.*, 2018). Esta coerência nos resultados não só reforça a credibilidade dos estudos em análise, mas também sublinha a importância de reconhecer a ingestão de água como um fator

crítico no domínio do bem-estar metabólico e da obesidade.

A dieta obesogênica oferecida para as ratas no presente estudo tinha um alto percentual de gorduras saturadas, além de ter sido o macronutriente da dieta mais ingerido tanto no período de gestação quanto de lactação, fatores que podem ter sido fundamentais para o aumento de peso das ratas do grupo obesogênico. Sabe-se que o controle do ganho de peso durante toda a gestação é fundamental, tanto para a saúde da mãe, quanto da sua prole. Ganho de peso excessivo durante esse período, muitas vezes está associado a disfunções metabólicas como diminuição da tolerância a glicose, resistência a insulina e diabetes gestacional (Parreira *et al.*, 2017; Rangel *et al.*, 2018).

Através de sua pesquisa, Rangel *et al.* (2018) também investigou o impacto de uma dieta com altos teores de gordura na resistência à insulina em animais. O estudo revelou uma ligação clara e direta entre o consumo de quantidades excessivas de gordura e o aparecimento de resistência à insulina. Estas descobertas alinham-se perfeitamente com os resultados obtidos na investigação acima mencionada, que mostrou um aumento notável nos níveis de glicose no sangue em jejum e um declínio na tolerância à glicose entre ratos que foram alimentados com uma dieta obesogênica durante o período de gravidez e lactação.

O estudo de Teixeira (2019) investigou a conexão entre a obesidade e a resistência à insulina, esclarecendo a contribuição do tecido adiposo na liberação de adipocinas pró-inflamatórias. Estas substâncias têm o potencial de iniciar respostas inflamatórias e perturbar a sinalização da insulina. Os resultados do estudo estão alinhados com os da pesquisa citada, que identificou alterações nos níveis séricos de insulina e glucagon em ratos expostos a uma dieta obesogênica. Isto implica uma perturbação na regulação do metabolismo da glicose (Teixeira, 2019).

Vale ressaltar que, apesar das variações nos modelos animais e nos métodos de pesquisa, vários estudos demonstram consistentemente a importância do controle da dieta e do peso corporal para prevenir a resistência à insulina e o aparecimento do diabetes tipo 2. Estas descobertas não só validam os resultados do estudo específico em questão, mas também sublinham a importância de considerar tanto os fatores dietéticos como os mecanismos fisiopatológicos subjacentes à obesidade e às suas complicações metabólicas. Ao integrar as descobertas do presente estudo com pesquisas anteriores, pode ser alcançada uma compreensão mais abrangente e diferenciada do impacto de uma dieta obesogênica durante a gravidez e a lactação no

metabolismo energético e na regulação da glicose (Teixeira, 2019).

Alterações metabólicas relacionadas a variação do ambiente nutricional, muitas vezes estão associadas a um quadro de estresse oxidativo. As ratas que receberam dieta obesogênica apresentaram aumento de biomarcadores de estresse oxidativo e um comprometimento do sistema antioxidante não enzimático decorrente, pelo menos em parte, do excesso de EROS. Esse desequilíbrio entre a produção de EROS e a capacidade do organismo de neutralizá-las, está correlacionada a ter uma dieta desbalanceada (Viana *et al.*, 2020). Haubert *et al.* (2010) propuseram em seu estudo a avaliação do estresse oxidativo em ratos da linhagem Wistar, comparando um grupo controle que recebeu ração de biotério, com um grupo experimental, que recebeu uma dieta hiperglicídica e, apesar de terem evidenciado a indução de esteatose nos animais do grupo experimental, não foi observada diferença significativa nos índices de malondealdeído-MDA e glutatona reduzida-GSH (Haubert *et al.*, 2010).

No presente estudo, os índices de GSH apresentaram-se reduzidos no grupo obesogênico, indicando que a dieta oferecida, quando comparada a do estudo de Haubert *et al.* (2010), diminui os fatores de proteção das células contra a oxidação (Haubert *et al.*, 2010). O MDA, que é um dos produtos da peroxidação lipídica amplamente utilizado como indicador de lesão celular (Grotto *et al.*, 2008) foi encontrado em maiores quantidades nos animais do grupo obesogênico, sugerindo oxidação de lipídios de membrana celular por excesso EROs.

Também foi verificado através deste estudo que a dieta obesogênica consumida por ratas durante a gestação e lactação acarretou uma modulação positiva na atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD. Estas enzimas desempenham funções essenciais na proteção do organismo contra danos causados pelos radicais livres e são fundamentais para manter o equilíbrio do balanço REDOX celular e proteger o tecido contra o estresse oxidativo (Velloso *et al.*, 2021). Outra enzima antioxidante, essencial no combate a detoxificação por xenobioticos, a GST, teve sua atividade diminuída pela dieta obesogênica. A diminuição da atividade da GST, pode ser decorrente da diminuição do estado REDOX pancreático, visualizado pela diminuição dos níveis de GSH e aumento dos níveis de GSSG. A diminuição da razão GSH/GSSG observada no grupo obesogênico, também sugere um quadro de estresse oxidativo decorrente de uma maior presença de espécies reativas de oxigênio (Huber *et al.*, 2008).

As avaliações histomorfométricas das ilhotas de Langerhans mostraram aumento de número de células, área, diâmetro e perímetro no grupo obesogênico, possivelmente como uma resposta adaptativa do pâncreas em resposta a dieta, como uma forma de aumentar a liberação de hormônios pancreáticos diretamente relacionados a regulação glicêmica. Um estudo que avaliou os efeitos da administração crônica de uma dieta hiperlipídica em ratos machos, observou a preservação da normoglicemia nos animais tratados com a dieta hiperlipídica, apesar das alterações morfológicas no pâncreas, sugerindo uma adaptação funcional das ilhotas pancreáticas. Esses achados, comparados aos do presente estudo, podem indicar um menor controle dos índices glicêmicos de ratas gestantes alimentadas com dietas obesogênicas, tendo em vista a influência do estado de sobrepeso e obesidade na regulação dos níveis de glicemia (Duarte *et al.*, 2006; Parrettini *et al.*, 2020).

Os resultados de aumento de peso corporal e índice de Lee, bem como a glicemia em jejum, o TOTG, os níveis aumentados de insulina e glucagon, bem como as alterações morfológicas observadas nas análises histomorfométricas nos levaram a avaliar a expressão de genes inflamatórios no pâncreas. O aumento significativo na expressão do gene IL-6 sugere uma resposta inflamatória nas ratas gestantes e lactantes alimentadas com dieta obesogênica. O estudo de Oliboni *et al.* (2016), realizado em humanos, mostrou aumento dos níveis de IL-6, glicose, insulina e índice HOMA em pacientes obesos, quando comparados com pacientes eutróficos (Oliboni *et al.*, 2016).

Neste estudo, o índice de HOMA, utilizado para avaliar a resistência a insulina, também apresentou aumento significativo no grupo obesogênico, em comparação ao grupo controle, corroborando com os achados de Oliboni *et al.* (2016). O aumento do gene IL-6 pode ser explicado por um desequilíbrio na produção de adipocinas. Embora o tecido adiposo produza adipocinas anti-inflamatórias, a sobrecarga de calorias e a presença de adipócitos hiperativos podem resultar em um ambiente inflamatório crônico (Oliveira *et al.*, 2019).

O gene TNF codifica a proteína TNF- α , que desempenha um papel central na regulação da resposta inflamatória. A elevação na expressão desse gene nos grupos submetidos à dieta obesogênica sugere que há uma ativação aumentada da via inflamatória do TNF- α nesse contexto. A hipertrofia do tecido adiposo, associada à dieta obesogênica, pode contribuir para a produção elevada de TNF- α , por sua vez, também desempenha um papel importante na fisiopatologia da resistência à insulina

(Speretta *et al.*, 2014). Esses dados da literatura corroboram com os achados do presente estudo, que identificou um aumento do gene TNF e da resistência insulínica associados ao grupo que recebeu dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

8 CONCLUSÃO

A dieta obesogênica ofertada para ratas gestantes e lactantes resultou em alterações significativas no consumo alimentar, peso corporal, biomarcadores de estresse oxidativo, atividade dos sistemas antioxidantes, morfologia pancreática, níveis hormonais e regulação glicêmica. Onde houve diminuição do consumo alimentar, GST, da atividade do sistema antioxidante não enzimático; e aumento expressivo no peso corporal, nos biomarcadores de estresse oxidativo (com exceção das sulfidrilas), na atividade da catálase e da SOD, no tamanho das ilhotas pancreáticas, nos níveis de insulina e glucagon, e nos níveis basais de glicose.

A análise do consumo alimentar revelou diferenças marcantes nos padrões de ingestão de macronutrientes, com o grupo obesogênico apresentando maior consumo de lipídeos em ambas as fases, gestação e lactação.

Os achados ressaltam os impactos adversos de dietas com altos teores de lipídeos e carboidratos, durante períodos críticos do desenvolvimento, influenciando não apenas o ganho de peso, mas também provocando alterações no equilíbrio REDOX, morfologia pancreática e regulação hormonal. Essas descobertas reforçam a importância da nutrição adequada nesses períodos de gestação e lactação, visando promover a saúde metabólica materna e fetal.

REFERÊNCIAS

- AEBI, Hugo. Catalase in vitro. *In*: AEBI, Hugo. **Methods in enzymology**. Academic press, 1984.
- APPLETON *et al.* Atherosclerosis: an inflammatory disease. **N Engl J Med.**, 340: 115–126, 2016.
- ASKARI, Muhammad Usman *et al.* Blue Economy of Pakistan: Challenges and Prospects. **Journal of the Punjab niversity Historical Society**, v. 33, n. 02, 2020.
- BAYOL, Stephanie *et al.* The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. **British journal of nutrition**, v. 91, n. 3, p. 331-339, 2004.
- BAYS, Harold. Adiposopathy, “sick fat,” Ockham’s razor, and resolution of the obesity paradox. **Current atherosclerosis reports**, v. 16, p. 1-11, 2014.
- BLACK, M. M. *et al.* Early childhood development coming of age: science through the life course. **The Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 77-90, 2017.
- BOYD, R.; SILK, J. **How Humans Evolved**. 8th ed. New York: Norton and Company, 2019.
- BOYD, R.; SILK, J. How Humans Evolved. **Norton & Company**, 2019.
- BRADFORD, Marion *et al.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BRAND, M.D.; NICHOLLS, D.G. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. **Biochemical Journal**, v. 435, n. 2, p. 297-312, 2011.
- BRONFENBRENNER, U. The ecology of human development: Experiments by nature and design. Harvard University Press, 1979.
- BUONOCORE, G. *et al.* Oxygen toxicity: Chemistry and biology of reactive oxygen species. **Seminars in Fetal & Neonatal Medicine**, v. 15, n. 4, p. 186-190, 2010.
- BURDGE, Hannah. Morrison's Call for Sisterhood and Unity in God Help the Child. **South Atlantic Review**, v. 86, n. 2, p. 16-28, 2021.
- CABALÍN, Carolina *et al.* Involvement of A2B adenosine receptors as anti-inflammatory in gestational diabetes. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 66, p. 31-39, 2019.
- CAO, Y.; LI Z.; MAO, X.; *et al.* Association between Serum Fatty Acids and Inflammatory Markers in Overweight Individuals with or without Type 2 Diabetes Mellitus. **J Clin Med**. 2019;8(6):786. doi:10.3390/jcm8060786.

CARMICHAEL, Joanne Carroll *et al.* Project Baby Bear: Rapid precision care incorporating rWGS in 5 California children's hospitals demonstrates improved clinical outcomes and reduced costs of care. **The American Journal of Human Genetics**, v. 108, n. 7, p. 1231-1238, 2021.

CATALANO, Patrick M.; SHANKAR, Kartik. Obesity and pregnancy: mechanisms of short term and long term adverse consequences for mother and child. **Bmj**, v. 356, 2017.

CERF, Marlon E. Beta cell dysfunction and insulin resistance. **Frontiers in endocrinology**, v. 4, p. 43179, 2013.

CRYER, P. E. *et al.* Mechanisms of Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure and Its Component Syndromes in Diabetes. **Diabetes**. 2013;62(6):1972-1981. doi: 10.2337/db12-1462.

DOLINOY, Dana C. *et al.* Maternal genistein alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. **Environmental health perspectives**, v. 114, n. 4, p. 567-572, 2018.

DUARTE, A. C. G. DE O. *et al.* Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 341–348, maio 2006.

FAKHRUDDIN, S. *et al.* Redox regulation of insulin degradation: the role of insulin-degrading enzyme (IDE) in its own regulation and insulin metabolism. **Free Radic Biol Med**. 2021; 172:250-259. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.008.

FEIJÓ, F. DE M. Efeito da suplementação com sacarina e sacarose no ganho de peso e consumo energético em ratos wistar com dieta não restrita. **Health Sciences**. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/URGS_d0b35813f3682cb5b64430b9b05292ef. Acesso em: 8 fev. 2024.

GERALDO, Júnia M.; ALFENAS, Rita de CG. Papel da dieta na prevenção e no controle da inflamação crônica: evidências atuais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, p. 951-967, 2008.

GINTER, E.; SIMKO, V. Alcoholism: recent advances in epidemiology, biochemistry and genetics. **Bratislavske Lekarske Listy**, v. 110, n. 5, p. 307-311, 2021.

GLUCKMAN, Peter D.; HANSON, Mark A.; MITCHELL, Murray D. Developmental origins of health and disease: reducing the burden of chronic disease in the next generation. **Genome medicine**, v. 2, p. 1-3, 2010.

GONZÁLEZ, A. *et al.* Nutritional support in acute pancreatitis: from physiopathology to practice. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 3381, 2015.

GONZÁLEZ, I. A. Benefícios do pilates em pacientes cardiopatas com disfunção erétil. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 74, p. 15-31, 2015.

GROTTO, Denise *et al.* Avaliação da estabilidade do marcador plasmático do

estresse oxidativo: malondialdeído. **Química Nova**, v. 31, p. 275-279, 2008.

GUEDES, Murielem Fernandes *et al.* Prevalência da retinopatia diabética em unidade do Programa de Saúde da Família. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 68, p. 90-95, 2009.

GURGUL-CONVEY, Ewa *et al.* Sensitivity profile of the human EndoC- β H1 beta cell line to proinflammatory cytokines. **Diabetologia**, v. 59, p. 2125-2133, 2016.

HABIG, William H.; PABST, Michael J.; JAKOBY, William B. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.

HAIDARI, F. *et al.* Obesogenic diets and their impacts on metabolic health. **Journal of Nutrition and Food Security**, v. 6, n. 2, p. 99-105, 2021.

HAUBERT, N. J. B. G. B. *et al.* Experimental induction of steatosis in different tissues after the ingestion of a carbohydrate-rich diet: effect on the liver, on the heart and on indicators of oxidation. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 47, n. 4, p. 388–392, out. 2010.

HEINDEL, Jerrold J. *et al.* Developmental origins of health and disease: integrating environmental influences. **Endocrinology**, v. 156, n. 10, p. 3416-3421, 2015.

HENDRIKSEN, Rene S. *et al.* Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 1124, 2019.

HERMANNNS, Norbert *et al.* The impact of continuous glucose monitoring on low interstitial glucose values and low blood glucose values assessed by point-of-care blood glucose meters: results of a crossover trial. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 8, n. 3, p. 516-522, 2014.

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

HOTAMISLIGIL, Gökhan S.; DAVIS, Roger J. Cell signaling and stress responses. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 8, n. 10, p. a006072, 2016.

HRUBY, Adela *et al.* Determinants and consequences of obesity. **American journal of public health**, v. 106, n. 9, p. 1656-1662, 2016.

HUANG, C. *et al.* Three-dimensional morphometric analysis of the pancreas and its main duct using computed tomography. **BMC Gastroenterology**, v. 23, n. 1, p. 23, 2023. doi: 10.1186/s12876-022-02125-7.

HÜBENER, Mark; BONHOEFFER, Tobias. Neuronal plasticity: beyond the critical period. **Cell**, v. 159, n. 4, p. 727-737, 2014.

HUBER, Paula C. *et al.* Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Curr Opin Pharmacol**. 2008;6(6):615-619. doi:10.1016/j.coph.2006.08.008.

ICHIM, Gabriel *et al.* Limited mitochondrial permeabilization causes DNA damage and genomic instability in the absence of cell death. **Molecular cell**, v. 57, n. 5, p. 860-872, 2015.

JAACKS, Lindsay M.; SLINING, Meghan M.; POPKIN, Barry M. Recent trends in the prevalence of under-and overweight among adolescent girls in low-and middle-income countries. **Pediatric obesity**, v. 10, n. 6, p. 428-435, 2015.

JACKSON *et al.* Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? **Atherosclerosis**. 148: 209–214, 2017.

KANG, Yun Pyo *et al.* Spheroid-induced epithelial-mesenchymal transition provokes global alterations of breast cancer lipidome: a multi-layered omics analysis. **Frontiers in oncology**, v. 9, p. 145, 2019.

KOŁODZIEJCZYK, A. A. *et al.* Diet–microbiota interactions and personalized nutrition. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 12, p. 742-753, 2019.

LAGRANHA, Claudia *et al.* Glutamine supplementation prevents exercise-induced neutrophil apoptosis and reduces p38 MAPK and JNK phosphorylation and p53 and caspase 3 expression. **Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease**, v. 25, n. 5, p. 563-569, 2007.

LEE, J. E. *et al.* Dietary fiber and probiotics influence the gut microbiome and melanoma immunotherapy response. **Science**, v. 374, n. 6575, p. 1632-1640, 2021.

LI, Longman *et al.* The essential element manganese, oxidative stress, and metabolic diseases: links and interactions. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, 2018.

LIANG, L. P. *et al.* Mitochondrial biogenesis and mitochondrial quality control in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Neuroscience Bulletin**, v. 29, n. 3, p. 377-389, 2013. doi: 10.1007/s12264-013-1331-9.

LIVAK, Kenneth J.; SCHMITTGEN, Thomas D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LOBSTEIN, T. *et al.* Child and adolescent obesity: part of a bigger picture. **The Lancet**, v. 385, n. 9986, p. 2510-2520, 2015.

LÓPEZ-CANO, M. *et al.* EHS clinical guidelines on the management of the abdominal wall in the context of the open or burst abdomen. **Hernia**, v. 22, p. 921-939, 2018.

LU, C. *et al.* Risk of poor development in young children in low-income and middle-

income countries: an estimation and analysis at the global, regional, and country level. **Lancet Global Health**, v. 7, n. 10, p. e1245-e1254, 2019.

LU, Shibao *et al.* The impact of climate change on the sustainable development of regional economy. **Journal of Cleaner Production**, v. 233, p. 1387-1395, 2019.

MAFRA V. *et al.* High-Fat Diet Induces Oxidative Stress and Reduced Insulin Secretion in Mouse Pancreatic Islets. **Oxid Med Cell Longev**. 2021;2021:6624806. doi:10.1155/2021/6624806.

MAIRESSE, J. *et al.* Maternal stress alters endocrine function of the feto-placental unit in rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 315, n. 6, p. E1128-E1140, 2018.

MALAFAIA, Andressa Bressan *et al.* Obesity induction with high fat sucrose in rats. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, São Paulo, v. 26, p. 17-21, 2013.

MALTA, Deborah Carvalho *et al.* Mortalidade por doenças cardiovasculares segundo o sistema de informação sobre mortalidade e as estimativas do estudo carga global de doenças no Brasil, 2000-2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, p. 152-160, 2020.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian journal of biology**, v. 62, p. 609-614, 2002.

MATTHEWS, D. R. *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, p. 412-19, 1985.

MORBIDELLI, J. *et al.* Relationship between plasma leptin levels and the tumor necrosis factor-alpha system in obese subjects. **Int J Obes**. 23: 355–360, 2016.

MURPHY, M. P. How mitochondria produce reactive oxygen species. **Biochemical Journal**, v. 417, n. 1, p. 1-13, 2009. doi: 10.1042/BJ20081386.

NAVARRO-YEPES, J. *et al.* Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death versus survival. **Antioxid Redox Signal**.

NURWANTI, Esti *et al.* Roles of sedentary behaviors and unhealthy foods in increasing the obesity risk in adult men and women: a cross-sectional national study. **Nutrients**, v. 10, n. 6, p. 704, 2018.

OLIBONI, Luana *et al.* Correlação entre a concentração sérica de interleucina-6 (IL-6) e biomarcadores de resistência insulínica em adultos jovens obesos. **Clinical and Biomedical Research**, v. 36, n. 3, 2016.

OLIVEIRA, Marina Ferreira de *et al.* Feridas em membros inferiores em diabéticos e não diabéticos: estudo de sobrevivência. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 40, p.

e20180016, 2019.

PAGLIAI, G. *et al.* Effectiveness of a Khorasan Wheat - Based Replacement on Pain Symptoms and Quality of Life in Patients with Fibromyalgia. **Pain Medicine**, v. 21, n. 10, 2020.

PANDOL, S. J. *et al.* The pancreas: from biology to bench to bedside. **American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 317, n. 2, p. G215-G221, 2019.

PANTHAM, Priyadarshini *et al.* Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus. **Placenta**, v. 36, n. 7, p. 709-715, 2015.

PARDO, Fabián *et al.* Altered foetoplacental vascular endothelial signalling to insulin in diabetes. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 66, p. 40-48, 2019.

PARREIRA, Fabiana Trocades *et al.* **Efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre o remodelamento e metabolismo do ventrículo esquerdo na prole de ratos ao desmame.** 2017.

PARRETTINI, Sara *et al.* Nutrition and metabolic adaptations in physiological and complicated pregnancy: focus on obesity and gestational diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, p. 611929, 2020.

PATEL, D. *et al.* Imaging of the Pancreatic **Ductal Anatomy**. **Radiologic Clinics**, v. 58, n. 1, p. 107-121, 2020. doi: 10.1016/j.rcl.2019.08.005.

PATTYN, Nathalie *et al.* Bridging exercise science, cognitive psychology, and medical practice: Is “cognitive fatigue” a remake of “the emperor’s new clothes”? **Frontiers in Psychology**, v. 9, p. 371410, 2018.

PEREIRA, Hellen Esteffani Fonseca *et al.* Perfil nutricional e dietético de idosos atendidos nas estratégias de saúde da família do norte de minas gerais. **Revista de APS**, v. 21, n. 2, 2018.

PISOSCHI, A.M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015.

PRENTKI, Marc; NOLAN, Christopher J. Insulin resistance and insulin hypersecretion in the metabolic syndrome and type 2 diabetes: Time for a conceptual framework shift. **Diabetes and Vascular Disease Research**, v. 16, n. 2, p. 118-127, 2019.

RANGEL, Natália D. *et al.* **Consumo materno de dieta hiperlipídica:** alteração na expressão do receptor de angiotensina II (AT1) e hipertrofia no coração da prole ao desmame. 2018.

RAO, P. V. *et al.* RSSDI consensus on self-monitoring of blood glucose in types 1 and 2 diabetes mellitus in India. **International Journal of Diabetes in Developing Countries**, v. 38, p. 260-279, 2018.

ROBERTSON, R. Paul. Oxidative stress and impaired insulin secretion in type 2

diabetes. **Current opinion in pharmacology**, v. 6, n. 6, p. 615-619, 2006.

SAKAI, Koji *et al.* Mitochondrial reactive oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic β -cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 300, n. 1, p. 216-222, 2003.

SALVADÓ, A. *et al.* Raised interleukin-6 levels in obese patients. **Obes Res.** v.9, p.62-64, 414–417.

SANTOS-MARCOS, J. A. *et al.* Implication of the gut microbiota in the physiology of rats intermittently exposed to cafeteria diet. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 195, 2018.

SAXENA, Geetu *et al.* Intracellular Shuttling and Mitochondrial Function of Thioredoxin-interacting Protein 2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 6, p. 3997-4005, 2010.

SCHNEIDER CD, OLIVEIRA AR. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **RBME**, 10(10):308-13, 2020.

SELVI, Nachimuthu Maithili Karpaga *et al.* Association of triglyceride–glucose index (TyG index) with hbA1c and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. **Maedica**, v. 16, n. 3, p. 375, 2021.

SILVEIRA, Patrícia P. *et al.* Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD). **Jornal de Pediatria**, v. 83, p. 494-504, 2007.

SILVEIRA, Vanessa Gomes *et al.* Percepção da mãe sobre aleitamento materno na puericultura. **Ciência, Cuidado e Saúde**, v. 7, n. 4, p. 523-529, 2008.

SINGH, Ram Sarup *et al.* Recent insights in enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 565-572, 2016.

SOUZA, Andréa Roberto Duarte Lopes *et al.* Dieta com alto teor de gordura e desempenho de tourinhos de grupos genéticos diferentes em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 746-753, 2009.

SPERETTA, Guilherme Fleury *et al.* Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, n. 1, 2014.

TEIXEIRA, Livia Clemente Motta. **Influência da ausência da melatonina maternal durante a gestação e lactação sobre a neurogênese e sobre o desenvolvimento somático e sensorio-motor da prole**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

TURENS, J. F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. **The Journal of Physiology**, v. 552, n. 2, p. 335-344, 2003. doi: 10.1113/jphysiol.2003.049478.

UNGER, R. H.; CHERRINGTON, A. D. Glucagonocentric restructuring of diabetes: a pathophysiologic and therapeutic makeover. **Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 1, p. 1-11, 2019.

URSINI, F. *et al.* Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 710, n. 2, p. 197-211, 1982. doi: 10.1016/0005-2760(82)90032-3.

VALKO, M. *et al.* Metals, toxicity and oxidative stress. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 10, p. 1161-1208, 2005. doi: 10.2174/0929867053764635.

VELLOSA, José Carlos Rebuglio *et al.* Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

VIANA, Ana Carolina Cavalcante *et al.* Correlation between nutritional assessment and oxidative stress in candidates for liver transplant. **Einstein**, v. 18, 2020.

VYGOTSKY, L. S. Mind in society: The development of higher psychological processes. **Harvard University Press**, 1978.

WAN, Lixin *et al.* Phosphorylation of EZH2 by AMPK suppresses PRC2 methyltransferase activity and oncogenic function. **Molecular cell**, v. 69, n. 2, p. 279-291. e5, 2018.

WANG, Y. *et al.* Maternal dietary patterns and risk of adverse pregnancy and birth outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Advances in Nutrition**, v. 12, n. 5, p. 1576-1588, 2021.

WELCH, K. D. *et al.* Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. **Free Radic Biol Med**. 32(7): 577-83, 2022.

WHO. Nothing for us, without us. Opportunities for meaningful engagement of people living with NCDs: meeting report. **Geneva: World Health Organization** Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO, 2023.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11234459/> World Health Organ Tech Rep Ser;894:i-xii, 1-253, 2001.

WU, Y. *et al.* The antioxidative roles of GST isoenzymes in protecting plants from heavy metal toxicity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 324, p. 1-9, 2017.

YUEN, Kevin *et al.* A case series of atypical features of patients with biopsy-proven isolated IgG4-related hypophysitis and normal serum IgG4 levels. **Pituitary**, v. 21, p. 238-246, 2018.

ZANATTA, Loris *et al.* **Perón y el mito de la nación católica**. Eduntref, 2013.

ZHANG, Y. *et al.* Anatomical characteristics of pancreatic uncinate process and its

clinical significance. **Journal of Surgical Oncology**, v. 125, n. 2, p. 252-257, 2022.
doi: 10.1002/jso.26716.

ZHENG, J. S. *et al.* Maternal dietary patterns and risk of adverse pregnancy and birth outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Advances in Nutrition**, v. 12, n. 5, p. 1576-1588, 2021.

ANEXO A - CARTA DE ACEITE DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE



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, 02 de maio de 2022

Ofício nº 26/22

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

Para: **Prof.ª Mariana Pinheiro Fernandes**
Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão
Processo nº 0061/2019

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.ª 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 26/04/2022

Finalidade	☐ Ensino ☒ Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Maio de 2022 a Maio de 2023
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
 Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2345691

