



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

ANDERSON APOLONIO DA SILVA PEDROZA

**INSULTOS NUTRICIONAIS NO PERÍODO CRÍTICO DO
DESENVOLVIMENTO: AVALIAÇÃO DO ESTRESSE
OXIDATIVO E MORFOLOGIA DO CÓRTEX RENAL**

Recife

2018

ANDERSON APOLONIO DA SILVA PEDROZA

**INSULTOS NUTRICIONAIS NO PERÍODO CRÍTICO DO
DESENVOLVIMENTO: AVALIAÇÃO DO ESTRESSE
OXIDATIVO E MORFOLOGIA DO CÓRTEX RENAL**

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

Área de concentração: Ciências Biológicas II

Orientadora: Prof^a Dr^a Claudia Jacques Lagranha

Coorientador: Prof^o Dr^o Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Junior

Recife

2018

Catálogo na Fonte
Elaine C Barroso (CRB4/ 1728)

Pedroza, Anderson Apolonio da Silva

Insultos nutricionais no período crítico do desenvolvimento: avaliação do estresse oxidativo e morfologia do córtex renal / Anderson Apolonio da Silva Pedroza- 2018.

81 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Claudia Jacques Lagranha

Coorientador: Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Junior

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em

Bioquímica e Fisiologia. Recife, 2018.

Inclui referências e anexos

1. Insultos nutricionais 2. Estresse oxidativo 3. Morfologia glomerular I. Lagranha, Claudia Jacques (orient.) II. Aguiar Junior, Francisco Carlos Amanajás (coorient.) III. Título

616.39

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2018-456

ANDERSON APOLONIO DA SILVA PEDROZA

**INSULTOS NUTRICIONAIS NO PERÍODO CRÍTICO DO
DESENVOLVIMENTO: AVALIAÇÃO DO ESTRESSE
OXIDATIVO E MORFOLOGIA DO CÓRTEX RENAL**

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

Área de concentração: Ciências Biológicas II

Aprovada em 27/07/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Claudia Jacques Lagranha (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dr^a Ana Durce de Oliveira Paixão (Examinadora interna)
Universidade Federal de Pernambuco

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

Prof^o Dr^o Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar meus passos, me fortalecendo protegendo para a realização dos meus sonhos;

À John Lennon, por estar sempre ao meu lado, ensinando-me cada vez mais como ser uma pessoa melhor, amo você;

Aos meus irmãos, Ezequias, Ezequiel, Geyson e Huanna;

À meu avô Carlos Lippo, por seu meu exemplo de pessoa honesta;

À Prof.^a Dra Claudia Lagranha, por todas as oportunidades, por todos os conselhos, tanto na minha vida profissional, quando na vida pessoal, sendo sem dúvida, uma referência para toda a minha vida;

À Prof.^a Dra. Mariana Pinheiro, a pessoa mais meiga que já conheci;

À Prof.^a Dra. Aline Isabel, por todas as novas técnicas de laboratório a mim ensinadas;

À ‘Bicamada Lipídica’, D’arc, Vitória e Rudá toda a amizade, respeito e apoio

Aos meus amigos, Lonardo Pedra, Marcello Rawashy, Rafaela Barrozo e Valdinha;

Aos que fazem parte do Laboratório de Bioquímica Geral, Molecular e do Exercício;

Aos que fazem parte do Laboratório Biotecnologia e Fármacos, em especial ao meu co-orientador Prof^o Francisco Amanajás e Pedro Thiago;

Aos alunos 2017.2 e 2018.1 da Bioquímica do Exercício do Centro Acadêmico de Vitória e a todos os Professores do Núcleo de Educação Física;

Aos que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, em especial à Prof.^a Dra. Ana Durce e o Prof. Dr. Leucio Duarte;

E, principalmente, à minha avó Noemia e meu primo Jhonathan, sei que do céu eles estão contemplando orgulhosamente o que estou conquistando;

À FACEPE pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho e principalmente pela bolsa de mestrado.

RESUMO

Estudos demonstram uma estreita correlação entre o estado nutricional inadequado durante os períodos de gestação e de lactação na gênese de doenças renais, cardiovasculares e metabólicas. Assim, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da restrição proteica durante os períodos de gestação e lactação e a superalimentação pós-natal sobre o estresse oxidativo e a morfologia renal. Dois protocolos nutricionais foram utilizados. No primeiro, ratas Wistar prenhas receberam uma dieta contendo 17% de caseína ou 8% de caseína durante toda a gestação e lactação. No segundo, a superalimentação foi induzida através da redução do tamanho da ninhada no terceiro dia pós-natal. Aos 30 dias de vida, os filhotes machos foram sacrificados e as seguintes análises foram realizadas no córtex renal: morfometria glomerular; níveis de fibrose no glomérulo; biomarcadores de estresse oxidativo e capacidade antioxidante enzimática e não enzimática. Tanto a dieta com baixa proteína quanto a superalimentação aumentaram a área do corpúsculo renal, o diâmetro glomerular, o número de células na área glomerular e induziram maiores níveis de colágeno na área glomerular. Nos ensaios bioquímicos, ambos os insultos elevaram os biomarcadores de estresse oxidativo (MDA e Carbolinas) e reduziram a atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase. Além de reduzir os níveis de glutathione reduzida e sulfidrilas totais, componentes do sistema de defesa antioxidante não enzimático. Nossos resultados demonstram que independentemente do tipo de insulto nutricional durante o período crítico do desenvolvimento, há a ocorrência de alterações na morfologia renal e deposição de colágeno glomerular, o que pode estar associado ao mecanismo fisiopatológico induzido pelo estresse oxidativo no córtex renal.

Palavras-chave: Insultos Nutricionais. Estresse Oxidativo. Morfologia Glomerular.

ABSTRACT

Studies have demonstrated the correlation between inadequate nutritional status during gestational and lactation periods on the genesis of kidney, cardiovascular and metabolic diseases. Thus, in the present study we investigated the effects of protein restriction during gestation and lactation periods and the post-natal overfeeding on the oxidative stress and renal morphology of male offspring. Two nutritional protocols were used. In the first, pregnant *Wistar* rats received either 17% of casein or 8% of casein throughout pregnancy and lactation. In the second, the overfeeding was induced via reducing the litter size on postnatal day 3 induced postnatal. At 30 days of life, male pups were sacrificed and the following analysis performed in the renal cortex: oxidative stress biomarkers and enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity; glomerular morphometry and levels of fibrosis in the glomerulus. Both low-protein as well as overfeeding insults increased oxidative stress biomarkers (lipid and protein oxidation) while reduced the antioxidant enzymatic defense (superoxide dismutase, catalase activities), in addition to decrease in non-enzymatic defense (reduced glutathione and total sulfhydryl groups). Related to morphology we observe an increase in renal corpuscle area, glomerular diameter, cell numbers in the glomerular area and higher percentage of collagen in the glomerular area. Our results demonstrated that the nutritional insults during development induced oxidative stress in the renal cortex which may be the mechanism to induce alteration in renal morphology and glomerular fibrosis.

Key words: Nutritional Insults. Oxidative Stress. Glomerular Morphology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização do mesoderma intermediário.....	14
Figura 2 – Representação esquemática das fases pronefron (a) e mesonefrons (b) do desenvolvimento renal.....	15
Figura 3 – Estágios de formação do metanefro, o rim permanente.....	17
Figura 4 – Sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	24
Figura 5 – Reação de formação das espécies reativas de oxigênio.....	30
Figura 6 – Agentes antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.....	31

Artigo 1 - Both Maternal Low-Protein and Neonatal Overnutrition Result in Similar Changes to Glomerular Morphology and Renal Cortical Oxidative Stress Measures in Male Wistar Rats

Figura 1 – Graphical abstract: Diagram represents the experimental designs and main findings of the study.....	56
Figura 2 – Body weight: Differences in body weight during early development (14, 21 and 30 days of life) in male offspring of mothers were fed with either a normal protein diet or a low protein diet (left); male rats receiving normal nutrition vs overnutrition during early development (right) Data presented as mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$	57
Figura 3 – Renal corpuscle morphology: Images of renal corpuscles from male rats with normal protein mothers, or low protein mothers, and of male rats that were normally fed or overnourished during early development. Hematoxylin & eosin stain (A) and picosirius red stain (D). B) Bar graphs of measurements of renal corpuscular and glomerular tuft area as described in Materials and Methods; C) Number of nuclei per glomerulus. E) Bar graphs of the percentage of collagen in glomerulus in each group. Data were analyzed by light microscopy $\times 400$, and bars represent the mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$	58
Figura 4 – Oxidative stress biomarkers in the renal cortex: Bar graphs of lipid peroxidation measured by MDA, and protein oxidation measured by carbonyl in male offspring of normal protein vs low protein mothers; or normally fed vs overnourished neonates. Data presented as mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$	59
Figura 5 – Enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity in the renal cortex: Bar graphs enzymatic activities in male offspring of mothers fed with normal protein vs low protein; or male rats normally fed vs overnourished during the neonatal period. A) Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and Glutathione-S-Transferase (GST) activities; B) GSH; C) Thiol content. Data presented as mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$. ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$	60

LISTA DE ABREVIATURAS

ADH	Hormônio Antidiurético
CAT	Catalase
CDNB	1-chloro-2,4-dinitrobenzene /1-cloro-2,4-dinitrobenzene
DNPH	2-4 dinitrofenil-hidrazina
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
ERO's	Espécies Reativas de Oxigênio
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione Reduzida
GSSG	Dissulfeto de Glutathione
GST	Glutathione S Transferase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₂ O	Água
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MDA	Ácido Malonaldeído
O ₂ •	Ânion superóxido
OH-	Radical hidroxila
OMS	Organização mundial de saúde
ONOO-	Peroxinitrito
OPT	o-phthalaldehyde
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TCA	Ácido Tricloroacético
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 Tecido renal	14
2.1.1 Desenvolvimento	14
2.1.2 Aspectos Gerais da Anatomia e Morfologia	18
2.1.3 Regulação da pressão arterial	23
2.2 Período crítico do desenvolvimento: evolução da “teoria da origem desenvolvimentista da saúde e doença” e sua relação com o desenvolvimento de doenças	24
2.3 Repercussões da desnutrição proteica no período crítico do desenvolvimento	26
2.4 Repercussões da supernutrição no período crítico do desenvolvimento	28
2.5 Relação entre o estresse oxidativo e lesões renais	29
3 OBJETIVOS	33
3.1. Geral	33
3.2. Específicos	33
A) Avaliar no rim esquerdo de ratos supernutridos, desnutridos e controles as seguintes características microanatômicas:	33
B) Avaliar no córtex do rim direito de ratos supernutridos, desnutridos e controles:	33
4 ARTIGO	34
5 CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	62
ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA	82

1 INTRODUÇÃO

Uma das prioridades atuais da Organização Mundial de Saúde (OMS) refere-se ao combate às doenças crônico-degenerativas. As mortes causados por problemas cardiovasculares representam 31% de todas as mortes globais, seguidas pelo câncer (21%), doenças respiratórias crônicas (12%) e diabetes (3%) (WHO, 2017). A OMS inclui como estratégias para combater tais doenças uma alimentação adequada e mudanças no estilo de vida, priorizadas desde as fases iniciais da vida.

Evidências epidemiológicas e experimentais têm mostrado uma relação direta entre insultos sofridos na infância com o surgimento da obesidade e doenças correlatas ao longo da vida adulta (PAIXAO *et al.*, 2001; BARKER *et al.*, 2002; BATESON *et al.*, 2004; TORRENS *et al.*, 2006; HANSON e GLUCKMAN, 2011). Em busca de uma melhor compreensão sobre o impacto dessas alterações ambientais (nutricionais, por exemplo) ocorridas no início da vida com as mudanças fenotípicas e a maior predisposição à doenças crônicas não degenerativas a longo prazo, a comunidade científica vêm dando maior atenção às manifestações patológicas a nível molecular, celular, fisiológico e comportamental (BADR e MOHANY, 2011; COLLDEN *et al.*, 2015; BERGLUND *et al.*, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2017; NATT *et al.*, 2017).

A desnutrição é definida por uma inadequada ingestão de nutrientes como proteínas, vitaminas e minerais (DE ONIS *et al.*, 1993), resultando na incapacidade do organismo em suprir a demanda necessária para o crescimento, desenvolvimento e manutenção de funções específicas de forma fisiológica, aumentando assim a predisposição ao aparecimento e/ou progressão de doenças metabólicas (DE ONIS *et al.*, 1993). A desnutrição é um problema crítico de saúde que afeta vários países em desenvolvimento, o aumento de casos de desnutrição tem sido associado à morte prematura em crianças (FAO, 2015). Estudos experimentais demonstram uma estreita relação entre a desnutrição e alterações na função renal, tais como, aumento da reabsorção de sódio, alterações na expressão de receptores de angiotensina II (AT2) nos túbulos proximais renais e desenvolvimento da hipertensão arterial (VIEIRA-FILHO *et al.*, 2011).

Por outro lado, a obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo desequilíbrio do balanço energético levando ao acúmulo de gordura corporal, podendo estar associado ou não a distúrbios genéticos, endocrinometabólicos e ambientais (SIMOPOULOS, 1987; PHILLIPS, 2013). Atualmente, mais de 1,4 bilhões de adultos estão com sobrepeso, 500 milhões são classificados como obesos e mais de 40 milhões de crianças abaixo dos cinco anos de idade já estão apresentando sobrepeso ou obesidade (WHO, 2017). O impacto da obesidade sobre as

doenças metabólicas já está sendo bem discutido na comunidade científica, estudos mostraram que a obesidade é um fator de risco independente para o desenvolvimento de várias doenças crônicas, como o diabetes tipo 2, o desenvolvimento de câncer, síndrome metabólica, doenças cardiovasculares e renais (FORD *et al.*, 2002; HALL *et al.*, 2014; DING *et al.*, 2015).

Os rins são os órgãos responsáveis pela filtração, excreção e reabsorção de componentes plasmáticos, além de exercer funções metabólicas e endócrinas. Este órgão tem como principal função, a manutenção da homeostasia, regulando o meio interno pela reabsorção e excreção de substâncias e íons (água, cloreto, sódio, Bicarbonato, Glicose, Uréia, potássio, ácido úrico, Creatinina) (STEVENS e LEVEY, 2005). Por minuto, os rins recebem e filtram, através dos glomérulos, aproximadamente 1.200 a 1.500 ml de sangue e produzem 180 mL/minuto de um fluído praticamente livre de células e proteínas (LIMA, 2007). A obesidade vem sendo apontada como um fator essencial para o desenvolvimento e/ou progressão de patologias em diversos órgãos, incluindo os rins (YIM *et al.*, 2012).

Um dos possíveis mecanismos indutores de alterações na função renal é o aumento da formação das espécies reativas de oxigênio (EROS) (DUGAN *et al.*, 2013). Uma via de formação de EROS consiste na redução monoelétrica do oxigênio à água, onde há a entrada de elétrons na molécula de oxigênio promovendo o aparecimento do radical superóxido (O_2^-), e posteriormente pela ação de enzimas antioxidantes e reação com metais ocorre a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e do radical hidroxila (OH^-) (SIES, 1991). O desequilíbrio entre a formação e a remoção das EROS no organismo, decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos ou do aumento da geração de espécies oxidantes, gera um estado pró-oxidante que favorece a ocorrência de lesões oxidativas (estresse oxidativo) em macromoléculas e estruturas celulares, que podem resultar na morte e disfunção celular (SIES, 1991; HALLIWELL, 2012).

Dados derivados de estudos clínicos relacionando obesidade e estresse oxidativo, estabeleceram uma correlação entre biomarcadores de estresse oxidativo com altos índices de massa corporal (IMC) (VINCENT e TAYLOR, 2006; SANKHLA *et al.*, 2012), esse aumento ocorre pelo fato das células adiposas serem significantes fontes de produção de espécies reativas de oxigênio, além disso, estresse oxidativo associado com obesidade altera a função de diferentes tipos celulares e teciduais, sendo um importante fator na indução de doenças metabólicas relacionadas à obesidade (TORMOS *et al.*, 2011).

Em virtude do relato acima, o desenvolvimento dessa dissertação teve como objetivo investigar os efeitos imediatos da desnutrição e da supernutrição no balanço oxidativo do córtex renal e na morfologia, levando a estruturação do artigo científico intitulado “*Both Maternal Low-Protein and Neonatal Overnutrition Result in Similar Changes to Glomerular Morphology*

and Renal Cortical Oxidative Stress Measures in Male Wistar Rats.”, o qual foi enviado e aceito para publicação à revista *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, de fator de impacto 2,78 e Quallis B2 em Ciências Biológicas II.

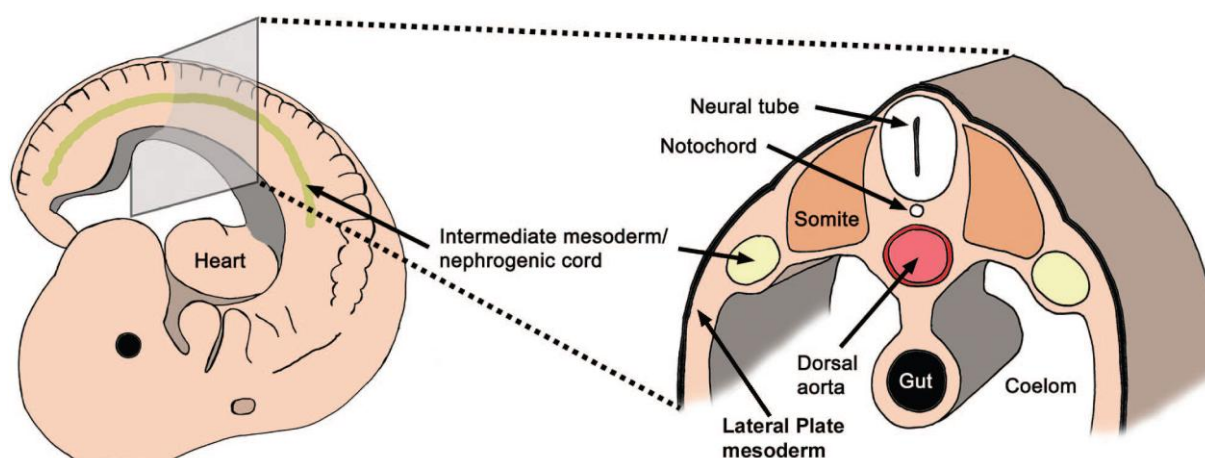
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Tecido renal

2.1.1 Desenvolvimento

O rim é um órgão vital que desempenha um papel essencial na homeostase da regulação da composição dos fluidos corporais e excreção de resíduos. O desenvolvimento renal é um processo complexo que exige fortes interações entre as células epiteliais e mesenquimais, sendo essas comunicações importantes durante a embriogênese, pois induzem coordenadamente o crescimento e diferenciação dos vários tipos celulares que irão compor o sistema renal (HUGHSON *et al.*, 2003; FAA *et al.*, 2012). Do ponto de vista embrionário, o rim deriva do mesoderma intermediário, que está localizado entre o mesoderma axial e o mesoderma da placa lateral, desenvolvendo-se em um sentido crânio-caudal (Figura 1) ao longo de três estágios de formação ou conjunto de rins, sendo eles: pronefro, mesonefro e matanefro (SAXEN e SARIOLA, 1987; LITTLE e MCMAHON, 2012).

Figura 1. Localização do mesoderma intermediário.

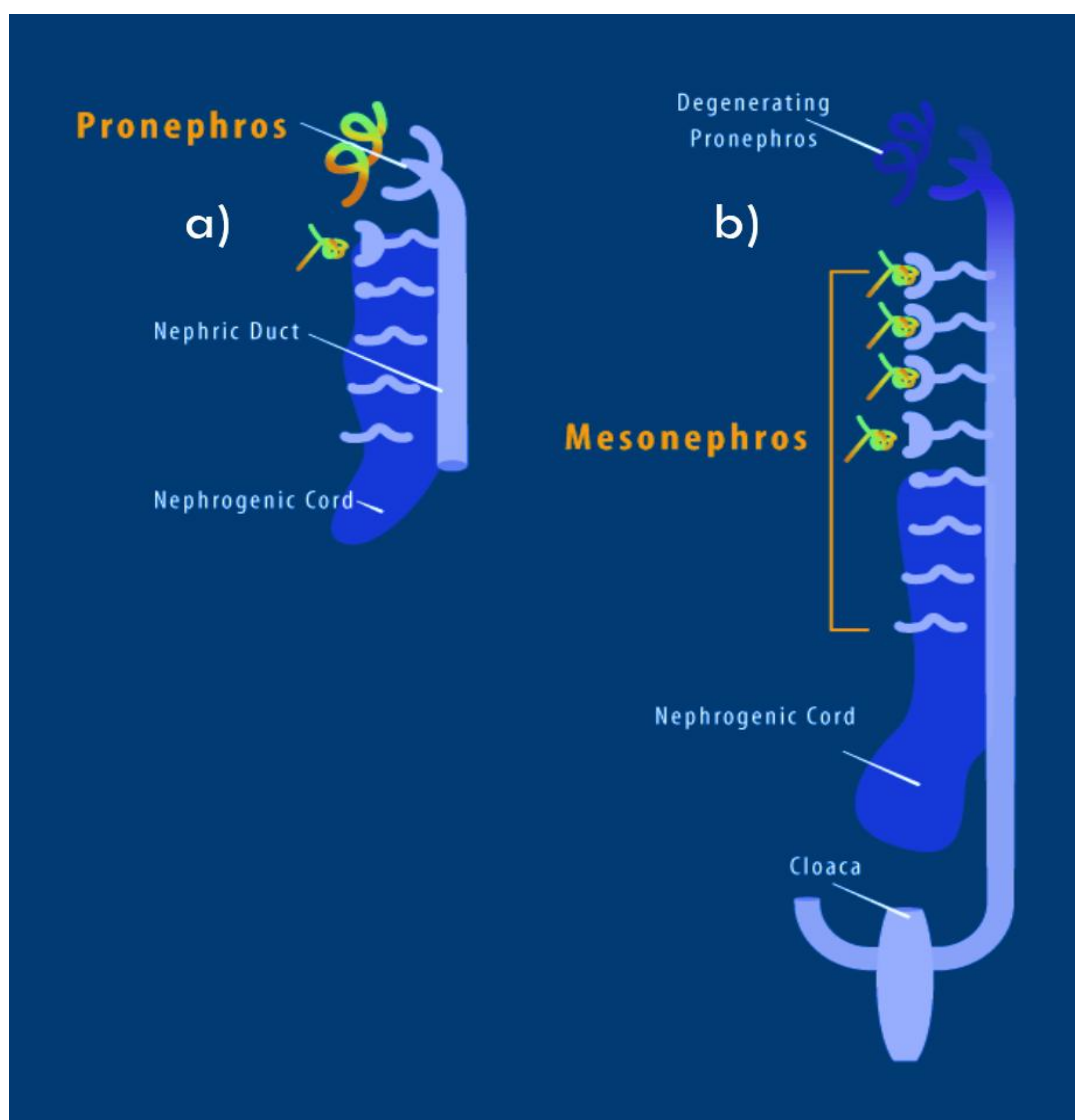


Fonte: Davidson (2008).

O pronefro é a estrutura primitiva do rim, exibe características transitórias e não funcionais, servindo apenas como um molde para a posterior formação do mesonefro (REIDY e ROSENBLUM, 2009). A formação do pronefro tem início aos 22 dias pós concepção em humanos e 8 dias pós concepção em ratos (KUURE *et al.*, 2000). Durante sua formação, um grupo de células mesenquimais localizadas na região encefálica diferenciam-se em células epiteliais, originando os túbulos nefrogênicos que se conectam a um ducto de proporções maiores (ducto mesonéfrico) que por sua vez se estende até a cloaca (REIDY e ROSENBLUM, 2009). (Figura 2. a)

À medida que o rim pronefro se degenera, surge na sua extremidade caudal o segundo conjunto de rins, o mesonefro (REIDY e ROSENBLUM, 2009; LITTLE e MCMAHON, 2012). Esses, são formados a nível cranial pelos glomérulos (em uma média de 10 a 50 por rim) e a níveis caudais pelos túbulos mesonéfricos proximais e distais (SAXEN e SARIOLA, 1987). Essa estrutura é bem desenvolvida e funciona como rins provisórios até que os rins permanentes se desenvolvam e comecem a funcionar (VETTER e GIBLEY, 1966; LITTLE e MCMAHON, 2012). Tanto em humanos, quanto em ratos, os túbulos mesonéfricos se fundem à cloaca e contribuem para a formação da bexiga urinária (TAGUCHI *et al.*, 2014). Nos machos, após sua degeneração, os túbulos e ductos formam o epidídimo, ducto deferente e vesículas seminais, enquanto que nas fêmeas todos os túbulos são perdidos (BURNS, 1955; VETTER e GIBLEY, 1966; SAXEN e SARIOLA, 1987). (Figura 2 b)

Figura 2. Representação esquemática das fases pronefron (a) e mesonefrons (b) do desenvolvimento renal.



Fonte: Adaptado de LifeMaps Sciences, Inc, disponível em: discovery.lifemaps.com

O último conjunto de rim a ser formado é o metanefro (ou rim permanente), essa estrutura se forma a partir da 5ª semana nos humanos e a aproximadamente no 11º dia de gestação nos ratos, é derivada do broto ureteral (um tubo epitelial derivado do ducto mesonéfrico) e blastema metanefrogênico (derivada das células mesenquimais que se originam do mesoderma intermediário) (DUDLEY *et al.*, 1999; JAMES *et al.*, 2006). O broto urogenital dará origem ao sistema coletor, seu desenvolvimento se dá em um eixo anteroposterior do embrião, por sua conexão ao blastema metanefrogênico (SAXEN e SARIOLA, 1987). A partir dessa junção, a porção proximal do mesênquima metanéfrico se condensa ao redor das extremidades uroterais e sofre repetidas diferenciações, alongando-se e ramificando-se, para dar origem a pelve renal, que por sua vez se ramifica em cálices maiores e penetra cada vez mais ao blastema metanefrogênico para enfim formar os túbulos coletores (COSTANTINI e KOPAN, 2010).

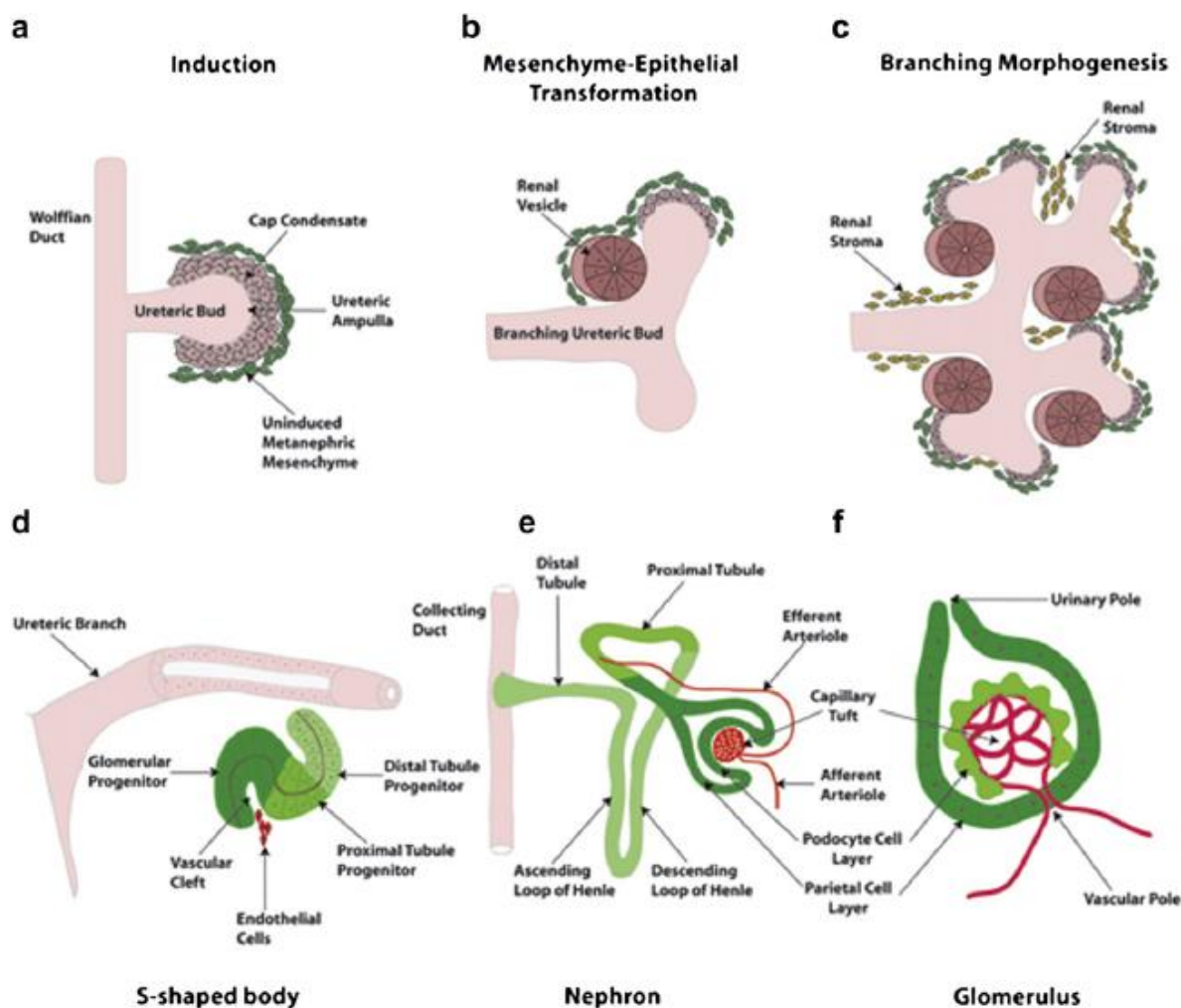
De forma simultânea ao desenvolvimento dos túbulos coletores forma-se também o sistema excretor, que é derivado do blastema metanefrogênico. À medida que os futuros túbulos vão se ramificando de forma dicotômica, aglomerados de células mesenquimais da mesoderme metanefrogênica formam grupos celulares adjacentes, grupos estes que dão origem às vesículas renais (SCOTT, 1987; SCHEDL, 2007). As vesículas renais originam túbulos em forma de “S”, a sua extremidade distal estabelece contato com o túbulo coletor que logo tornam-se confluentes, formando desta forma o túbulo contorcido distal (GROBSTEIN e DALTON, 1957). Por outro lado, a porção proximal do “S” conecta-se ao epitélio do broto uroteral, e é invaginada pelos glomérulos primários, dando origem ao espaço urinário. Esses segmentos mais proximal é subdividido em duas camadas epiteliais, uma parietal (capsula de Bowman) e outra visceral (podócitos) (GROBSTEIN, 1957). O contínuo alongamento desses túbulos resulta na formação do túbulo contorcido proximal, alça de Henle e túbulo contorcido distal. Todas essas estruturas juntamente com os glomérulos, formam o néfron (SCOTT, 1987; SCHEDL, 2007). Nos humanos, o desenvolvimento dos néfrons começam na 8ª semana fetal e termina aproximadamente na 34ª semana fetal (SUTHERLAND *et al.*, 2011; FANNI *et al.*, 2012; QUIGLEY, 2012). Nos ratos, a nefrogênese se inicia no 12º dia fetal e termina por volta do 10º dia pós natal (SOLOMON, 1977; TUFRO-MCREDDIE *et al.*, 1995). (Figura 3)

Durante o desenvolvimento dos rins a ativação de vias de sinalização e fatores de transcrição específicos são de extrema importância, pois serão eles que irão coordenar e determinar o destino celular, a migração, a proliferação e as diferenciações para a perfeita formação dos rins maduros. Um dos principais fatores envolvidos na formação dos rins é o *Odd skipped related1* (*Odd* ou *Osr1*), que são expressos no início do desenvolvimento renal

estimulando a formação das células que irão compor o néfron, os epitélios do ducto coletor e o interstício cortical (JAMES *et al.*, 2006). Logo em seguida o *Odd1* torna-se restrito a extremidade distal do broto uretético para a formação dos néfrons. A expressão do *Odd1* também está relacionada a ativação de outros genes e fatores de transcrição importantes para a gênese renal, como o *Eya1*, *Pax2*, *Six2*, *Sall1* e *GDNF* (XU *et al.*, 1999; NISHINAKAMURA e TAKASATO, 2005; KOBAYASHI *et al.*, 2008; MICHOS *et al.*, 2010; HOU, X. M. *et al.*, 2011).

Depois de formados, os rins que de início estavam próximos um ao outro e localizados na região pélvica recebendo o aporte sanguíneo pelas artérias ilíacas interna, migram e se afastam entre si gradativamente em sentido cranial para o abdômen e lá passam a receber o suprimento sanguíneo dos ramos arteriais da aorta abdominal que logo em seguida torna-se as artérias renais permanentes (SARIOLA, 1985).

Figura 3. Estágios de formação do metanefro, o rim permanente



Fonte: Rosenblum (2008).

2.1.2 Aspectos Gerais da Anatomia e Morfologia

Os rins são órgãos em pares que lembram a forma de um feijão, possuem coloração marrom-avermelhada e estão situados no espaço retroperitoneal. Juntamente com os ureteres e a bexiga os rins formam o sistema urinário. Em um adulto cada rim pesa entre 115 a 170 gramas, mede aproximadamente 13 centímetros de comprimento e 3 centímetros de espessura. Já nos recém nascidos, o peso varia entre 13 a 44 gramas (EMERY e MITHAL, 1960). Tomando como base a posição anatômica, o rim direito está localizado de 1 a 2 cm mais abaixo do rim esquerdo. O diafragma cobre posteriormente o terço superior dos rins, onde também há uma relação próxima com a pleura, que se estende até o nível da 12ª costela. O rim direito é limitado pelo fígado e pela flexura cólica direita. A parte descendente do duodeno com a cabeça do pâncreas recobre o hilo renal direito. O rim esquerdo é limitado anteriormente pela flexura colônica esquerda. O hilo renal esquerdo está em estreita relação anatômica com o corpo do pâncreas e dos vasos esplênicos. O polo superior dos rins encosta na glândula supra-renal, que pode cobrir o rim ou o hilo renal, especialmente à esquerda (ABDALLAH e TAWFIK, 1969; PETER D. VIZE, 2003).

Em sua porção externa, cada rim possui um polo superior e um inferior, além de duas bordas, uma convexa e outra côncava. Na borda côncava encontra-se uma região onde se concentram os vasos sanguíneos, os nervos, cálices renais e o ureter, região essa chamada de hilo. Toda a superfície renal é revestida pela capsula renal, uma superfície de tecido conjuntivo denso, muito fina e brilhante, que se adere à pelve e aos vasos sanguíneos a nível do hilo. No espaço retroperitoneal, o tecido renal é todo contornando por um tecido adiposo (gordura perirrenal) e recobrimo-os, tem-se um tecido conjuntivo chamado fáscia renal, que tem uma função protetora contra infecções, hemorragias e extravasamentos da urina (ABDALLAH e TAWFIK, 1969; PETER D. VIZE, 2003).

Na porção interna, o parênquima renal é dividido em córtex e medula, ambas porções são muito diferentes em suas propriedades estruturais e funcionais (FREEMAN *et al.*, 1989). Adjacente ao córtex encontra-se a medula, que é subdividida em região medular interna e externa, esta última também é dividida em zonas, internas e externas, na zona interna encontram-se os ductos coletores, as partes ascendentes e descendentes dos seguimentos delgados da alça de Henle. Por outro lado, a zona externa da região medular externa é composta pela porção terminal reta dos túbulos contornados proximais, seguimento espesso da alça de Henle e ductos coletores (KUBODERA *et al.*, 1993). A região medular interna é composta pelas ramo espesso descendente e fino ascendente da alça de Henle e ductos coletores. Na

medula renal também são identificadas as pirâmides medulares ou de Malpighi, estas são em número de 10 a 18 que possuem conformação cônica, seus vértices fazem saliência nos cálices renais, seus ápices são as estruturas denominadas de papilas renais. Cada papila renal apresenta de 18 a 24 pequenos orifícios que correspondem à desembocadura dos ductos coletores papilares. Envolvendo cada papila renal há uma extensão membranosa pertencente a porção superior do ureter, que juntas formam os cálices menores. Os cálices maiores, os quais desembocam na pélvis, é originado pela união de vários cálices menores. Seguindo um sentido direcional ao córtex com formato de leque, estão os raios medulares, neles contém as alças de Henle, os ductos coletores e os vasos sanguíneos (KRIZ, 1981). No que diz respeito a função, a medula renal é responsável por regular a concentração da urina. A urina segue um sentido unidirecional dos ductos coletores para os cálices e pélvis renais, logo após, por movimentos peristálticos, a urina segue para a bexiga pelos ureteres (CONSTANTINO, 1974). A medula renal também pode exercer um papel reparador ao rim, foi observado que essa característica ocorre em função de um aglomerado de células troncos encontradas nas papilas renais (OLIVER, 2004).

A região mais superficial do parênquima renal denomina-se córtex renal. O córtex tem cerca de 1 cm de espessura e ocupa todo o espaço compreendido entre as bases das pirâmides e a cápsula renal. Nele, observam-se vasos sanguíneos, glomérulos, túbulos proximais e distais dos néfrons mais superficiais. Nos humanos, existe de 200.000 mil a 1.8 milhões de néfrons por rim, e em roedores há aproximadamente 30.000 (NYENGAARD e BENDTSEN, 1992; HOY *et al.*, 2003; HEILMANN *et al.*, 2012). O número de néfrons pode variar de acordo com gênero. Nos seres humanos por exemplo, os homens possuem rins maiores e uma maior quantidade de néfrons, tais diferenças também podem ser identificadas em alguns tipos de roedores (HOY *et al.*, 2003; MURAWSKI *et al.*, 2010). A depender da sua localização no córtex renal, os néfrons são classificados em corticais, localizados na porção externa do córtex, e os chamados justamedulares, estes encontram-se na zona de transição entre o córtex e a medula. A principal diferença entre eles é uma menor alça de Henle dos néfrons corticais, que se estende apenas para a região externa da medula renal, enquanto os justamedulares contém alças maiores que se estendem mais profundamente na medula interna. Os néfrons são as unidades funcionais dos rins, é uma estrutura complexa, composta por 12 segmentos que se diferem no que diz respeito a anatomia e funções celulares (KNEPPER e BURG, 1983; KRIZ e BANKIR, 1988). Cada segmento do néfron é constituído por um ou mais tipos celulares que são altamente especializados e exibem de padrões de expressão gênica, e em alguns casos, embriológicas distintas (KRIZ e BANKIR, 1988). Esses segmentos são divididos em

corpúsculo renal e por quatro porções, que juntas, vão formar o túbulo renal, sendo elas: túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal e ducto coletor.

O corpúsculo renal é formado pelo glomérulo e por uma estrutura que o envolve, chamado cápsula de Bowman (MBASSA *et al.*, 1988). O glomérulo é um enovelado capilar formado a partir da arteríola aferente. Essa rede capilar, projeta-se pelo pólo vascular glomerular, para dentro da cápsula de Bowman dividindo-se em ramos e alças capilares para a formação do tufo glomerular, se reunindo posteriormente através do mesmo polo para a formação da arteríola aferente do glomérulo. A cápsula tem forma de cálice e dispõe de um folheto interno (visceral) fazendo contato com os capilares glomerulares e um folheto externo (parietal), que forma os limites do corpúsculo renal. Entre esses dois folhetos existe o espaço cápsular, que recebe o líquido filtrado através da parede dos capilares e do folheto visceral da capsula (POLLAK *et al.*, 2014). A função do glomérulo é a produção do ultrafiltrado através da barreira de filtração glomerular. A barreira de filtração glomerular encontra-se entre a vasculatura e o espaço urinário, é adaptada para permitir o fluxo eficiente de moléculas catiônicas, eletrólitos e solutos pequenos e médios ao mesmo tempo que restringe a passagem de proteínas plasmáticas (em especial a albumina e as imunoglobulinas), moléculas aniônicas e macromoléculas, além disso, consiste em três camadas: endotélio, membrana basal e podócitos.

As células endoteliais dos capilares glomerulares são altamente especializadas, possuem numerosas fenestrações (variando entre 70 e 100 nm de diâmetro) que servem como uma barreira para os componentes do sangue e grandes moléculas (BACK *et al.*, 2009). A membrana basal glomerular é constituída por uma lâmina basal fundida às células endoteliais dos capilares e às células epiteliais da camada visceral da capsula de Bowman (ABRAHAMSON, 1985). Em sua composição são encontradas algumas isoformas específicas de laminina, além de colágeno do tipo IV, nitrogênio e proteoglicanos de heparina sulfato (ABRAHAMSON, 1985). Por fim, na camada mais externa da membrana basal tem-se um dos principais componentes da barreira de filtração, que compreende um conjunto de células epiteliais anatomicamente únicas e complexas denominadas podócitos. Essas células enviam longas extensões ou prolongamentos primários que dão origem aos prolongamentos secundários que envolvem completamente os capilares glomerulares. Os podócitos contém actina em sua composição, são fixados à membrana basal por meio das proteínas denominadas de integrinas (SHIRATO *et al.*, 1996). Entre seus prolongamentos secundários existem as fendas de filtração, essas são lacunas fechadas por uma membrana constituída por nefrina, uma proteína que se liga transmembrana

aos filamentos citoplasmáticos de actina dos podócitos (WELSH e SALEEM, 2010; GRAHAMMER *et al.*, 2013).

A barreira de filtração é organizada com seletividade decrescente, ou seja, o podócito vem a ser o filtro menos seletivo enquanto que a membrana basal e o endotélio são mais seletivos. Inicialmente, o endotélio e a membrana basal rejeitam todas as moléculas maiores que 69 kDa e raio de 3,6 nm. Posteriormente, os demais componentes da barreira de filtração repelem por carga elétrica as moléculas negativamente carregadas. Caso não fossem organizadas dessa maneira, poderia haver um acúmulo de proteínas plasmáticas sobre os podócitos o que dificultaria e impediria a filtração (HARALDSSON *et al.*, 2008). A movimentação do ultrafiltrado do plasma depende da permeabilidade da membrana capilar e da diferença entre a pressão hidrostática e pressão oncótica (forças de Sterling). Além desses fatores, a filtração glomerular é influenciada pelo fluxo sanguíneo plasmático renal. Tanto a taxa de filtração glomerular quanto o fluxo sanguíneo plasmático são regulados por retroalimentação tubuglomerular e responsividade miogênica (autorregulação) (CASTROP *et al.*, 2004). Este último, envolve constrição e relaxamento das arteríolas aferentes em resposta à alterações da pressão arterial sistêmica (AUKLAND, 1989b; a).

Todo o tufo glomerular é sustentado por um conjunto de células contráteis, que se assemelham às células da musculatura lisa, sendo conhecidas como células mesangiais. As células mesangiais possuem forma irregular e são rodeadas por uma matriz extracelular, a matriz mesangial. Juntas, as células mesangiais e suas respectivas matrizes tornam-se bastante importante para a manutenção da integridade estrutural do glomérulo contra as forças hidrostáticas geradas dentro dos capilares. Produção e secreção de proteínas, fatores de crescimento, prostaglandinas e citocinas são outras das funções das células mesangiais, além da manutenção e fagocitose de moléculas presas na membrana basal (BARNETT *et al.*, 1987; SCHLONDORFF, 1987).

Depois de formado, o ultrafiltrado segue para a primeira porção dos túbulos renais, o túbulo proximal. As células epiteliais dos túbulos proximais são do tipo de célula mais populosa no rim e desempenham diversas funções endócrinas e regulatórias, possuem uma borda em escova densa de microvilosidades que aumenta a área de superfície para a absorção. Em função dessas características celulares, normalmente os túbulos proximais são responsáveis por todas as reabsorções de proteínas, aminoácidos, glicose e creatinina, além da reabsorção de água, e de íons como cloreto e sódio. Outra característica dessas células epiteliais é a grande quantidade de mitocôndrias, e complexo de Golgi, retículo endoplasmático liso e rugoso bem desenvolvidos (ABDULNOUR-NAKHOUL *et al.*, 2011; NAKHOUL e BATUMAN, 2011).

Existem variações morfológicas e funcionais ao longo de todo o túbulo proximal, com isso considera-se três seguimentos dos túbulos proximais: S1, S2 e S3. S1 e S2 são divididos igualmente na porção contorcida e o S3 corresponde ao restante da parte reta. De uma maneira geral esses três seguimentos possuem mecanismos de transportes iguais, a diferença se dá apenas na quantidade do que é transportado. Um exemplo, é da reabsorção da glicose e aminoácidos que são filtrados e que em condições normais ocorre no seguimento S1 (JACOBSON e KOKKO, 1976).

O próximo seguimento do néfron é a alça de Henle, uma estrutura em forma de “U” que consiste, sequencialmente em três ramos: fino descendente, fino ascendente e grosso ascendente. As células dos ramos finos descendente e ascendente são delgadas, possuem poucas mitocôndrias e raras microvilosidades nas membranas apical e basolateral. O epitélio do ramo ascendente grosso possui uma única camada de células cúbicas, poucos microcilos e interações basolaterais, suas mitocôndrias são largas e alongadas. A alça de Henle participa do processo de retenção de água. Ao contrário de todo o seu ramo ascendente, o ramo fino descendente é completamente permeável a água, que é reabsorvida passivamente a favor de um gradiente osmótico existente entre os fluidos tubulares e o interstício hipertônico que o envolve. No ramo espesso ascendente, o cloreto de sódio é transportado ativamente para fora da alça, para estabelecer o gradiente medular para concentrar a urina (ALLEN e TISHER, 1976; BERGERON *et al.*, 1980; SPEEDY *et al.*, 2001).

Na sequência do ramo grosso ascendente da alça de Henle tem-se o túbulo contorcido distal. Esse seguimento possui células cúbicas com poucos microvilos na região apical e citoplasma com inúmeras mitocôndrias. O túbulo contorcido distal reabsorve de 5 a 10% do cloreto de sódio, participa de forma importante na secreção de potássio, além de desempenhar um papel central na homeostase do cálcio sistêmico, na homeostase sistêmica do magnésio e na secreção de ácidos (MCCORMICK e ELLISON, 2015). O túbulo contorcido distal faz contato com o corpúsculo renal do mesmo néfron, e neste local há uma modificação de sua parede. Suas células tornam-se cilíndricas, altas e com núcleos alongados e juntos uns aos outros. Esse seguimento modificado da parede do túbulo distal chama-se mácula densa. A mácula densa é extremamente sensível ao conteúdo iônico e ao volume de água no fluido tubular, tal aparelho sintetiza moléculas sinalizadoras que promovem a liberação da renina na circulação (DORUP, 1988).

A partir da porção final do túbulo distal, formam-se os ductos coletores, que começam no córtex e termina na medula renal. As porções dos ductos situados no córtex renal têm cerca de 40 µm de diâmetro e células epiteliais cubóides, no que se aproximam em direção a papila,

seu diâmetro aumenta, podendo atingir 200 µm e passam a apresentar células colunares. Ambas são impermeáveis à ureia. A função principal desse seguimento é a regulação da concentração de urina que chega dos túbulos renais. É também responsável pela manutenção da homeostase de cloreto de sódio por meio de ajustes na excreção do mesmo pela urina (RAJAGOPAL e WALLACE, 2015). O hormônio antidiurético (ADH) é um importante regulador funcional dos ductos coletores. Sua ação torna o ducto coletor permeável a água. A Vasopressina é outro hormônio regulador funcional do ducto, através de sua ligação aos receptores V2 nos ductos coletores regula a osmolaridade através do aumento da permeabilidade de água (MIRONOVA *et al.*, 2012; ROOS *et al.*, 2013).

Todos os seguimentos dos néfrons trabalham em conjunto para o equilíbrio dinâmico do corpo. Além dessa função, o sistema renal é um importante regulador da pressão arterial. Os processos de como esta regulação ocorre será discutido no tópico a seguir.

2.1.3 Regulação da pressão arterial

Os mecanismos envolvidos na regulação da pressão arterial são complexos. Mecanismos neurais, hormonais e hemodinâmicos interagem entre si para conseguir uma eficiente regulação da pressão arterial, esses respondem a distintos distúrbios capazes de influenciar a função cardiovascular e podem ser classificados em três classes: regulação a curto prazo, regulação a médio prazo e regulação a longo prazo (GUYTON, 1961; NAVAR, 1997). Os mecanismos de regulação rápida são ativados em questão de segundos a partir de alterações da pressão arterial. São comandados pelos barorreflexores, quimiorreceptores e receptores cardiopulmonares controlados por mecanismos neurais e hormonais (GUYENET, 2006; MOREIRA *et al.*, 2006).

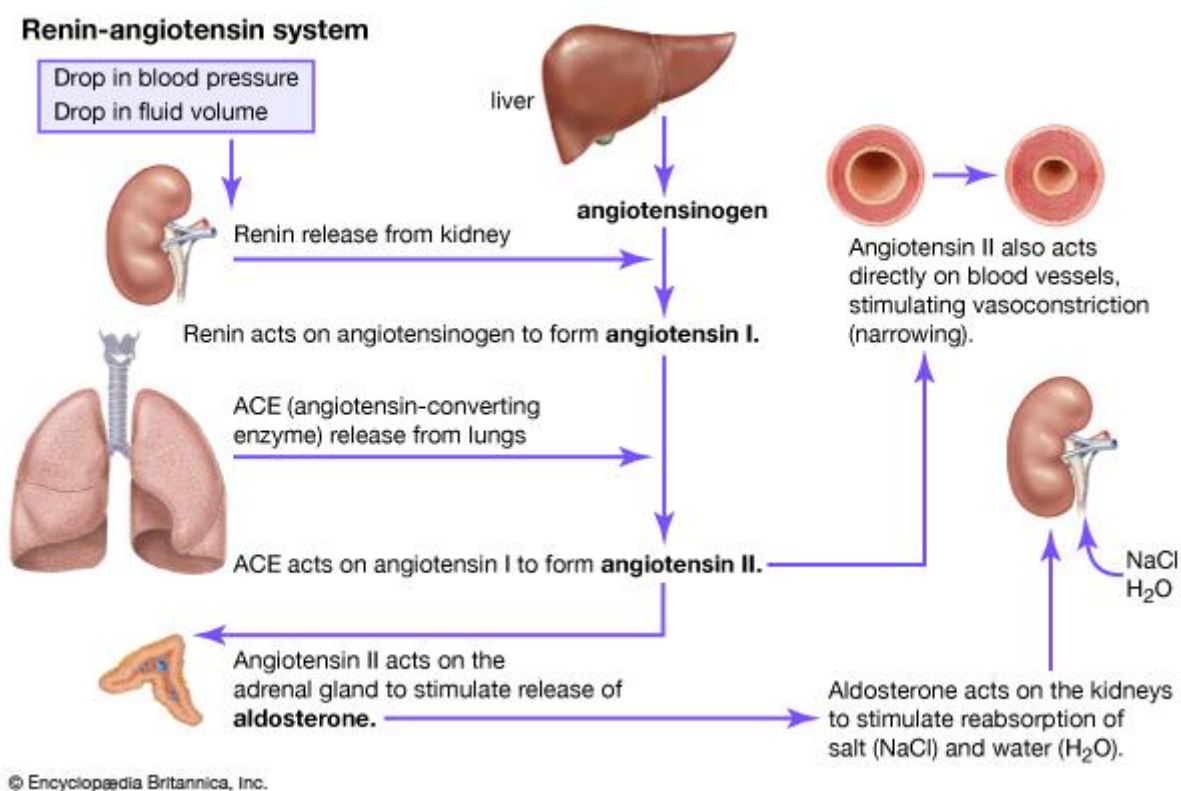
Os rins são responsáveis pela regulação a médio e longo prazo da pressão arterial. O controle a médio prazo envolve sensores renais da pressão arterial que levam a produção de renina e angiotensina II, que alteram as resistências vasculares para a correção da pressão arterial. As células musculares lisas diferenciadas nas paredes das arteríolas aferentes dos rins, denominadas células justaglomerulares, são as principais detectoras envolvidas nessa regulação intermediária (SEQUEIRA LOPEZ *et al.*, 2004). A partir da diminuição da pressão sanguínea sistêmica, há nas células justaglomerulares um aumento do impulso simpático que estimula a liberação da renina. A liberação da renina inicia uma série de eventos bioquímicos. A renina é uma enzima proteolítica que forma angiotensina I a partir do peptídeo angiotensinogênio, que posteriormente é convertido em angiotensina II pela enzima conversora de angiotensina

(ECA). A angiotensina II é um potente vasoconstritor que aumenta a resistência periférica e a pressão arterial (HARRISON-BERNARD, 2009; KALAITZIDIS e BAKRIS, 2009) (Figura 4)

Por outro lado, a regulação a longo prazo envolve principalmente o equilíbrio entre de água e sódio, mantendo a homeostasia do volume do líquido extracelular (GUYTON *et al.*, 1972). Quando a pressão arterial aumenta, o néfron reduz a reabsorção e aumenta a excreção de sódio e água, para que o volume do líquido extracelular e a pressão sanguínea voltem ao normal, fenômeno esse chamado de pressão natriurese (KIRCHHEIM *et al.*, 1989).

Caso venha acontecer perturbações que comprometam a função renal, esses reajustes do controle da pressão arterial podem ser comprometidos, sendo eles um dos principais desencadeadores de hipertensão arterial (COWLEY e ROMAN, 1996; HALL *et al.*, 1996; HELLER *et al.*, 1996).

Figura 4. Sistema renina-angiotensina-aldosterona



Fonte: Tashko (2018)

2.2 Período crítico do desenvolvimento: evolução da “teoria da origem desenvolvimentista da saúde e doença” e sua relação com o desenvolvimento de doenças

Durante a gestação, lactação e primeira infância o organismo depara-se com uma forte interação com as circunstâncias ambientais nas quais o mesmo se encontra, esta fase é

denominada de “período crítico do desenvolvimento” (DOBBING, 1964; WINICK *et al.*, 1972; MORGANE *et al.*, 2002). O período crítico do desenvolvimento é marcado por fases de rápida proliferação e diferenciação celular, característica esta que torna o organismo mais sensível às condições adversas impostas a ele (DOBBING e SANDS, 1985).

Um dos principais exemplos dessas condições adversas são os desequilíbrios nutricionais, que quando ocorridos nas fases pré e pós natal, induz ao organismo uma série de adaptações necessárias à sobrevivência (como por exemplo diminuição na taxa de divisão celular), induzindo alterações fisiológicas e morfológicas permanentes e/ou temporárias, que aumentam desta forma a predisposição às doenças crônicas na vida adulta (DOBBING e SANDS, 1985; BARKER *et al.*, 2002; HANSON e GLUCKMAN, 2011; BERGLUND *et al.*, 2016).

Do ponto de vista histórico tal relação começou a ser percebida no ano 1934 por Kermack *et al.*, que após realizarem um levantamento epidemiológico, surpreenderam-se ao constatar que o ambiente vivido durante os períodos mais precoces da vida, foi um fator importante na saúde e na taxa de mortalidade de indivíduos nascidos na Inglaterra e Suécia entre meados do século XVIII e início do século XIX (KERMACK *et al.*, 1934). Mesmo não sendo o objetivo central da pesquisa de Kermack, tais achados tornou-se umas das primeiras descobertas documentadas acerca do período crítico do desenvolvimento (KERMACK *et al.*, 1934). Anos mais tarde, em um estudo de coorte histórico com 300 mil homens nascidos entre 1944 e 1945 que foram expostos à uma restrição alimentar severa durante a segunda guerra mundial, conhecida como a “fome holandesa”, Ravelli *et al.* 1976 relataram que a má nutrição pré e o pós-natal relacionou-se com um retardo do crescimento fetal, mortes prematuras e aumentos significativos na incidência de obesidade (RAVELLI *et al.*, 1976).

Forsdahl (1977), reforçou a teoria de que o ambiente nas fases iniciais do desenvolvimento tinha forte influência na saúde cardiovascular em idades mais tardias e acrescentou que as chances no aparecimento de doenças cardíacas ateroscleróticas estavam aumentadas no grupo estudado que apresentou melhorias no padrão de vida quando comparado ao grupo que permaneceu em situações menos favoráveis (FORSDAHL, 1977). Barker *et al.* 1989, relatam um risco reduzido para manifestações de doenças isquêmicas cardíaca em indivíduos britânicos que foram bem nutridos na infância (BARKER *et al.*, 1989). Com base em tais achados, foi levantada a “hipótese do fenótipo poupador” (thrifty phenotype hypothesis), que propunha a ideia de que o feto seria capaz de adaptar-se a um ambiente intrauterino adverso, reajustando o uso dos suprimentos energéticos reduzidos, no sentido de garantir a sua sobrevivência (HALES e BARKER, 1992). Porém, tal processo levaria ao “erro

adaptativo”, induzindo o favorecimento metabólico de órgãos nobres (cérebro, coração, fígado, rim) em detrimento de outros, conferindo alterações persistentes no crescimento e função dos tecidos (HALES e BARKER, 1992).

Um conjunto de estudos publicados posteriormente impulsionaram a idéia de que condições desfavoráveis no desenvolvimento poderiam ter influência sobre susceptibilidade à doenças em idades mais tardias da vida, essas pesquisas convergiram para o levantamento da Teoria da Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença (DOHaD) (FRANKEL *et al.*, 1996; MARTYN *et al.*, 1996; STEIN *et al.*, 1996; LEON *et al.*, 1998; ERIKSSON *et al.*, 2000; BARKER *et al.*, 2002; LAWLOR *et al.*, 2005). Segundo esta hipótese, o ambiente pode alterar a estrutura e função dos órgãos, o DOHaD é o que norteia até os dias atuais todas as pesquisas voltadas para as manifestações das doenças crônicas degenerativas decorrentes dos estímulos ambientais sofridos nos períodos pré e pós-natal e que, boa parte dessas manifestações ocorrem em função do desenvolvimento da obesidade ou desnutrição.

Depois de estabelecido o entendimento de que a obesidade era uma das principais desencadeadoras de patologias como as doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e as doenças renais, e com a sua forte associação às condições nutricionais adversas durante o período gestacional e pós nascimento fortalecendo-se, o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na gênese da maior quantidade de tecido adiposo continuavam incertos e estudos mais minuciosos precisariam ser realizados e discutidos (BRESLOW, 1952; MCCANCE, 1962; FORSDAHL, 1977; HAHN, 1984; BRAY, 1985; PI-SUNYER, 1993). Estudos com modelos animais foram desenvolvidos para uma melhor compreensão dos efeitos da nutrição na gestação e infância sobre o metabolismo, crescimento, desenvolvimento do organismo e sobre os principais processos envolvidos na gênese de diversas doenças. Sendo assim, nutrição é provavelmente o maior agente influenciador ambiental tanto no feto quanto no recém-nascido, seja ela por excesso ou falta de nutrientes, e exerce um papel fundamental na gênese de diversas patologias.

2.3 Repercussões da desnutrição proteica no período crítico do desenvolvimento

A desnutrição é caracterizada como um déficit no balanço energético e proteico, o que pode prejudicar o funcionamento de vários processos fisiológicos. As taxas de desnutrição mundial são alarmantes. No ano de 2017, quase metade de todas as mortes em crianças menores de 5 anos foram atribuídas a desnutrição (UNICEF, 2018). Estudos epidemiológicos tem

mostrado que uma deficiência nutricional na infância aumentam as chances do desenvolvimento de obesidade e doenças correlatas, possuindo papel fundamental na saúde em períodos mais tardes na vida (HAO *et al.*, 2010; HANSON e GLUCKMAN, 2011).

Postula-se que o baixo peso ao nascer é um forte indicativo de saúde e nutrição materna e neonatal (ERIKSSON *et al.*, 2000; ROY, 2018). O sul da Ásia tem a maior incidência de baixo peso ao nascer, com um quarto dos seus recém-nascidos pesando menos de 2.500 gramas (UNICEF, 2018). No que diz respeito a desnutrição mundial, as populações mais afetadas são aquelas que vivem em condições de desenvolvimento socioeconômicos limitados (WHO, 2017).

Quando imposta nas fases iniciais do desenvolvimento, a desnutrição predispõe à um maior risco de perda da função renal com posterior elevações da pressão arterial e da morbidade cardiovascular (VILLAR-MARTINI *et al.*, 2009; VIEIRA-FILHO *et al.*, 2011; EDVARDSSON *et al.*, 2012). Uma dieta materna com baixo teor em proteínas durante a gestação e a lactação é um dos modelos experimentais em animais mais estudados para avaliação das desordens renais.

Estudando filhotes nascidos de ratas que receberam uma restrição alimentar de 50%, Desai e colaboradores (2005) observaram uma diminuição do peso corporal ao nascer, contudo esses animais apresentaram-se mais pesados aos 9 meses de idade além de uma redução no peso dos rins, coração e fígado (DESAI *et al.*, 2005). Villar-Martini e colaboradores (2009) identificaram em ratos nascidos de mães alimentadas com uma dieta contendo 5% de proteína durante a gestação e lactação, um retardo na glomerulogênese com diminuição no número de néfrons, espessamento da barreira de filtração glomerular, alterações estruturais nos podócitos e aumentos dos níveis pressóricos na idade adulta (VILLAR-MARTINI *et al.*, 2009).

Estudos com humanos mostram, que as mudanças provocadas durante o período crítico do desenvolvimento devido a carência nutricional, podem provocar um comprometimento no desenvolvimento do tecido renal (LATINI *et al.*, 2004). Diminuições no tamanho dos rins em virtude da desnutrição proteica promove um menor suprimento sanguíneo durante o desenvolvimento do mesmo (BARBERO *et al.*, 2018). A redução da massa renal por sua vez, reduz o número de néfrons, expondo desta maneira os néfrons remanescentes à adaptações na hemodinâmica para a manutenção da função renal, porém a longo prazo essas alterações exercer efeitos deletérios, como uma redução da taxa de filtração glomerular, hipertrofia glomerular e hipertensão (ABEL *et al.*, 1979; YANISHI *et al.*, 2017; CHANG *et al.*, 2018). Outros fatores que estão associados à diminuição no número dos néfrons, são o aumento da apoptose das células do rim metanéfrico durante o seu desenvolvimento e a menor expressão dos receptores

de angiotensina II que resulta na expressão diminuída do gene Pax-2 (TUFRO-MCREDDIE *et al.*, 1995; WOODS e RASCH, 1998; WELHAM *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2004).

Estudo de Paixão e colaboradores (2001) verificou hipertrofia glomerular, hiper celularidade por tufo glomerular além de alterações na hemodinâmica renal e maiores valores de pressão arterial aos 100 dias de vida em animais que receberam uma dieta carente em proteínas, lipídeos, vitaminas e minerais durante o período crítico do desenvolvimento (PAIXAO *et al.*, 2001).

A desnutrição não é o único insulto nutricional que predispõe ao surgimento de patologias renais e cardíacas. A maior oferta e consumo nutricional nos períodos iniciais da vida são relacionados com a obesidade infantil, distúrbios metabólicos, alterações renais e cardiovasculares.

2.4 Repercussões da supernutrição no período crítico do desenvolvimento

O excesso de peso e a obesidade são definidos como um desequilíbrio energético com acúmulo anormal ou excessivo de gordura (WHO, 2017). Apesar dos grandes problemas relacionados a desnutrição mundial, a obesidade vem tomando proporções preocupantes em todo o mundo. No ano de 2016, o número de indivíduos obesos acima de 18 anos, ultrapassou a marca de 650 milhões. Já em crianças com menos de 5 anos, o excesso de peso e a obesidade atingiu cerca de 41 milhões (WHO, 2017). Os países desenvolvidos estão no topo na incidência de pessoas obesas. Porém, a medida que os países em desenvolvimento se tornam economicamente mais ricos, suas respectivas populações aderem às mudanças no estilo de vida, como por exemplo, uma maior ingestão de alimentos ricos em gordura saturada, sódio e açúcares. Tais mudanças estão sendo acompanhadas de um aumento na taxa da obesidade (MATTEI *et al.*, 2012).

A obesidade aumenta a incidência de comorbidades como, hipertensão, dislipidemia, diabetes tipo II, esteatose hepática não alcoólica e disfunções renais (FALOIA *et al.*, 2000; GOODMAN, 2014; MASCALI *et al.*, 2016; ROMAIN *et al.*, 2018; RUILOPE *et al.*, 2018). Estudos epidemiológicos e experimentais vêm demonstrando que a obesidade na infância está associada com o maior índice de massa corporal na vida adulta (LU *et al.*, 2016; MURASHOV *et al.*, 2016; ROLLAND-CACHERA *et al.*, 2016; ARCHIBALD *et al.*, 2018).

Modelos experimentais de supernutrição pós-natal estão sendo utilizados para avaliar as possíveis implicações da excessiva ingestão nutricional sobre a obesidade a curto e a longo prazo. Um desses modelos experimentais para a indução de obesidade neonatal é a redução no

tamanho da ninhada (FIOROTTO *et al.*, 1991; PLAGEMANN *et al.*, 2006). Resultados obtidos a partir desse modelo de redução de ninhada demonstram que, a curto prazo, os neonatos possuem desregulação permanentes em neuropeptídios envolvidos no controle de ingestão de alimentos (DAVIDOWA e PLAGEMANN, 2000; FRANKE *et al.*, 2005). Seus efeitos a longo prazo são: excesso de peso após o desmame, aumento na ingestão de alimentos e hiperinsulinemia (LOPEZ *et al.*, 2005; HOU, M. *et al.*, 2011).

A obesidade induz alterações metabólicas que tem efeito direto sobre o desencadeamento das doenças renais. Aumentos na liberação de adiponectina pelo tecido adiposo tem um papel fundamental na albuminúria relacionada à obesidade (KOSHIMURA *et al.*, 2004; JORSAL *et al.*, 2008). Em um estudo com camundongos knockout para o gene da adiponectina, Sharma e colaboradores (2008), identificaram que esta proteína tem função regulatória sobre o podócito, contribuindo para o desenvolvimento inicial de albuminúria (SHARMA *et al.*, 2008). Aumento na secreção de leptina também está relacionada com a obesidade e integridade renal (SCHNEIDER *et al.*, 2018). Wolf e colaboradores (1999) demonstraram *in vitro* que a leptina é uma importante molécula indutora de dano renal por mecanismos de ativação de fatores de crescimento nas células endoteliais glomerulares e produção de colágeno do tipo IV (WOLF *et al.*, 1999).

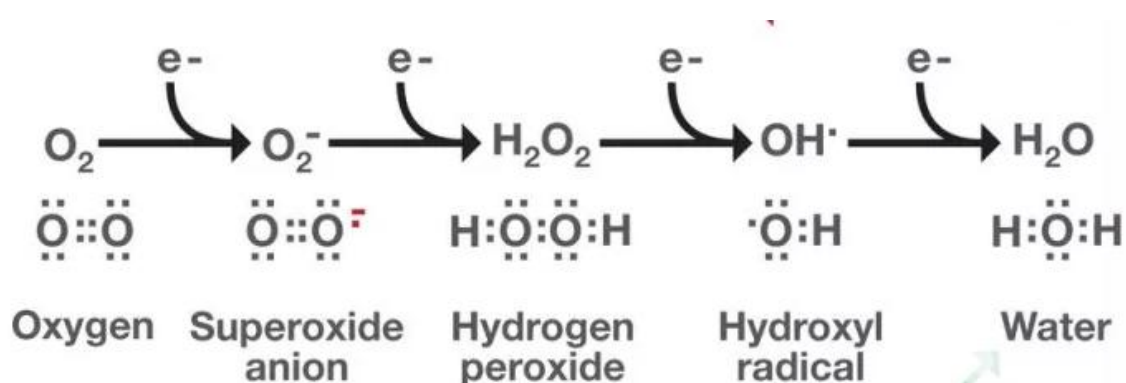
Estudo de Colditz e colaboradores (1990), já demonstraram que a obesidade pode levar a resistência à insulina (COLDITZ *et al.*, 1990). A resistência à insulina é um fator metabólico de risco para as doenças renais (KRIACHKOVA *et al.*, 2011; KITTISKULNAM *et al.*, 2018). A resposta renal frente a resistência à insulina é o aumento de angiotensina II, crescimento de células mesangiais, hipertrofia glomerular, lesões no podócito e alterações hemodinâmicas (KREISBERG, 1982; CUSUMANO *et al.*, 2002; WELSH e COWARD, 2010).

2.5 Relação entre o estresse oxidativo e lesões renais

O estresse oxidativo é uma condição celular decorrente de um desequilíbrio entre o sistema oxidante e o sistema de defesa antioxidante (HALLIWELL, 2007). Esse processo pode ser induzido por inúmeras condições, incluindo exposição a agentes químicos e por desequilíbrios nutricionais (RUDARLI NALCAKAN *et al.*, 2011; CHICO *et al.*, 2017; ERASLAN *et al.*, 2017; CAPPELLI *et al.*, 2018; DA SILVA BARRETO *et al.*, 2018). Na cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria, são consumidos cerca de 98% do oxigênio

molecular para formar água, as moléculas de oxigênios remanescentes são então reduzidas de forma monovalente para dar origem ao precursor e mediador de todas as reações em cadeia do estresse oxidativo, o ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$) (FRIDOVICH, 1997). O ânion superóxido sofre uma dismutação pela enzima superóxido dismutase sendo convertido a peróxido de hidrogênio (H_2O_2), este por sua vez é convertido pela catalase ou glutathiona-peroxidase à água e oxigênio (SHEEHAN *et al.*, 2001; COLAVITTI e FINKEL, 2005). O estresse oxidativo resulta em danos aos ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos e está envolvido em diversos processos patológicos, como por exemplo, o desenvolvimento de alguns tipos de cânceres, Alzheimer, aterosclerose e doença renal crônica (STORZ, 2005; HUANG *et al.*, 2016; KATTOOR *et al.*, 2017; ZHAO *et al.*, 2017). Entretanto, em condições fisiológicas as espécies reativas de oxigênio desempenham importantes papéis na transdução de sinais como segundos mensageiros, além de auxiliar o sistema imunológico combatendo microrganismos (FORMAN e THOMAS, 1986; RHEE, 2006; FINKEL, 2011).

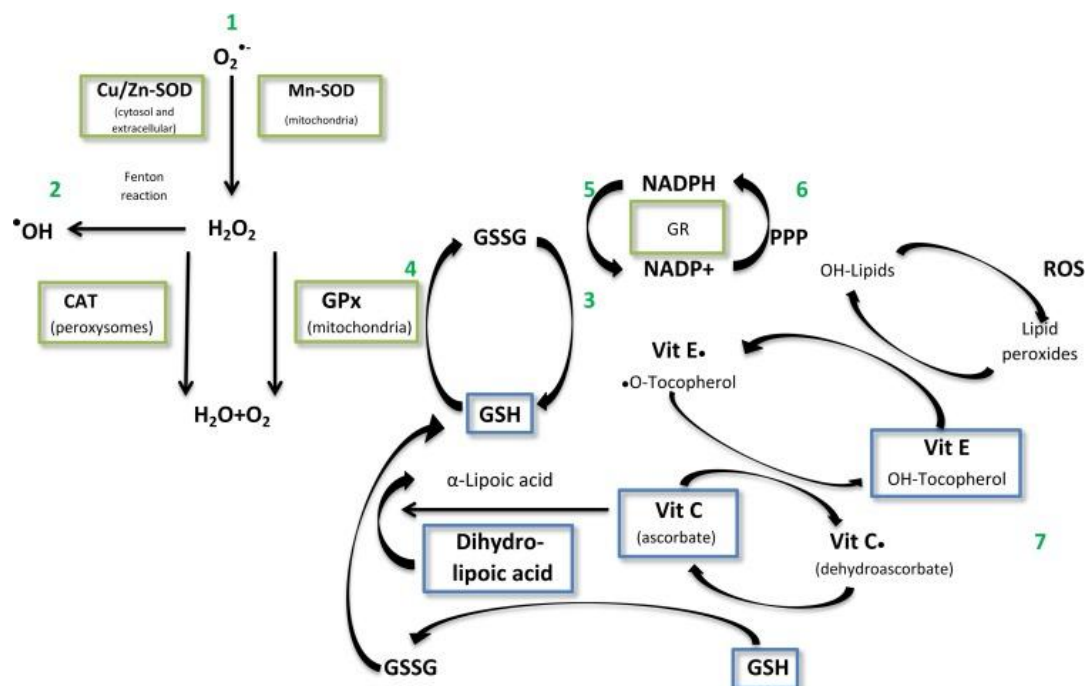
Figura 5. Reação de formação das espécies reativas de oxigênio.



Fonte: Brock (2012)

O sistema de defesa antioxidante é responsável por neutralizar a ação das espécies reativas de oxigênio e são divididos em dois tipos, defesa antioxidante enzimática e não enzimática. Na defesa antioxidante enzimática participam principalmente a superóxido dismutase, catalase, glutathiona peroxidase e glutathiona-S-transferase (LOCATELLI *et al.*, 2003; HALLIWELL, 2007; SUVAKOV *et al.*, 2013). As vitaminas E e C compõem o sistema antioxidante não enzimático, atuando respectivamente, protegendo os lipídeos constituintes da membrana celular e os lipídeos plasmáticos da peroxidação (GIVERTZ *et al.*, 2001). Outro componente importante desse sistema são as glutathionas reduzidas. Esse composto tiol de baixo peso molecular desempenha um papel chave na proteção das células contra os danos oxidativos e toxicidade dos xenobióticos, além de auxiliar na manutenção da homeostase redox (MEISTER, 1992).

Figura 6. Agentes antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.



Fonte: Agarwal (2017)

Alterações nas estruturas funcionais dos rins estão intimamente associadas a perda da função renal e o aumento do estresse oxidativo é um dos principais mecanismos envolvidos neste processo (TURI *et al.*, 1997; WHALEY-CONNELL *et al.*, 2006; RUGGIERO *et al.*, 2011; NATIONAL KIDNEY, 2012; DAEHN *et al.*, 2014; FLEMMING *et al.*, 2018). A literatura mostra que uma redução na expressão e atividade da enzima superóxido dismutase trás graves prejuízos aos rins (DERUBERTIS *et al.*, 2007). Dugan e colaboradores (2013) identificaram aumento na albuminúria e expansão da matriz glomerular em camundongos *knoukout* para esta enzima (DUGAN *et al.*, 2013). A diminuição da superóxido dismutase induz a uma produção excessiva de ânion superóxido, que resulta na formação de outras espécies reativas, incluindo o peroxinitrito e o radical hidroxila, potentes indutores de danos à DNA, proteínas e lipídeos (EVANS *et al.*, 2002).

Foi demonstrado que o radical hidroxila contribui para o desenvolvimento da hipertensão arterial, que por sua vez contribui para a progressão da insuficiência renal (WINGEN *et al.*, 1997; TEPEL, 2003). A catalase possui um papel fundamental contra lesão celular e tecidual, sua super expressão torna as células mais resistentes a toxicidade do peróxido de hidrogênio e minimiza lesões miocárdicas na hipertensão (YANG *et al.*, 2004; ZHOU *et al.*, 2004). Aumento na excreção de albumina e níveis elevados de peroxidação lipídica foram observados em animais com deficiência da atividade da catalase (KOBAYASHI *et al.*, 2005).

Atividade diminuídas da superóxido dismutase e da catalase acompanhadas de um aumento na peroxidação lipídica são observados nos eritrócitos de pacientes com doenças glomerulares (ANNUK *et al.*, 2001). A fibrose renal é um processo patológico na doença renal crônica, aumentos na produção das espécies reativas de oxigênio ativam vias de sinalização que estimulam fatores de crescimento que leva a maior formação e o acúmulo de colágeno tipo I e IV (CHEN *et al.*, 2003; WYNN, 2008; BARNES e GORIN, 2011; JAIN *et al.*, 2013; DAGHER *et al.*, 2017; SHI *et al.*, 2018).

O estresse oxidativo vem sendo apontado como um dos mecanismos moleculares chave responsável por induzir danos as estruturas renais com posterior diminuição da capacidade funcional renal. De acordo com os levantamentos apontados nessa fundamentação teórica, podemos atribuir aos insultos nutricionais sofridos no início da vida uma casuística para a patogênese renal; entretanto poucos são os dados da literatura que avaliaram os efeitos a curto prazo de uma restrição proteica e supernutrição neonatal relacionando-os com o estresse oxidativo e alterações estruturais renais.

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

Investigar os efeitos da supernutrição e desnutrição proteica em períodos críticos do desenvolvimento em relação ao balanço oxidativo e a morfologia no córtex renal de ratos jovens (30 dias de vida).

3.2. Específicos

A) Avaliar no rim esquerdo de ratos supernutridos, desnutridos e controles as seguintes características microanatômicas:

1. Área glomerular;
2. Área do corpúsculo renal;
3. Número de células glomerulares
4. Quantificação da deposição de colágeno;

B) Avaliar no córtex do rim direito de ratos supernutridos, desnutridos e controles:

1. Níveis de peroxidação lipídica (MDA);
2. Níveis de oxidação de proteínas (Carbonilas);
3. Atividade enzimática antioxidante
 - Superóxido dismutase (SOD);
 - Catalase (CAT);
 - Glutathione-S-transferase (GST);
4. Níveis de Glutathione-reduzida (GSH);
5. Níveis de grupamento sulfidrilas.

4 ARTIGO

Page 1 of 27

Appl. Physiol. Nutr. Metab. Downloaded from www.nrcresearchpress.com by Det Kongelige Bibliotek: Nationalbibliotek og Kbenhavns Universitetsbibliotek on 07/30/18
For personal use only. This Just-IN manuscript is the accepted manuscript prior to copy editing and page composition. It may differ from the final official version of record.

Both Maternal Low-Protein and Neonatal Overnutrition Result in Similar Changes to Glomerular Morphology and Renal Cortical Oxidative Stress Measures in Male Wistar Rats.

¹Anderson Pedroza, ¹Diorginis Soares Ferreira, ¹David F Santana, ²Pedro Thiago da Silva, ²Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior, ³Donald F Sellitti, ^{1#}Claudia J Lagranha

#Correspondence should be addressed to Dr. Claudia Lagranha, Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, Laboratory of Biochemistry and Exercise Biochemistry, Vitória de Santo Antão, 55608-680, Brasil. Tel: +55-81-35233351; E-mail: lagranha@hotmail.com

Affiliation and address for co-authors:

1. Laboratory of Biochemistry and Exercise Biochemistry / CAV. Federal University of Pernambuco.

Vitoria de Santo Antao, 55608-680, Brazil. Email: Anderson Pedroza, andersonggt@hotmail.com;

Diorginis Ferreira, diorginissoares@hotmail.com; David Santana, david-lipe@hotmail.com;

2. Department of Biology/ CAV. Federal University of Pernambuco. Vitoria de Santo Antao, 55608-

680, Brazil. Email: Pedro da Silva, pedro_thiago94@hotmail.com; Francisco Amanajás,

famanajas@yahoo.com.br;

3. Department of Anatomy, Physiology, and Genetics, School of Medicine. Uniformed Services

University of the Health Sciences. Bethesda-MD, 20814-4799, USA. Email:

donald.sellitti@usuhs.edu

Abstract: There is a strong correlation between inadequate gestational and postpartum nutrition with the occurrence of cardiovascular diseases. The present study investigates the effects of maternal low-protein and neonatal overfeeding on the oxidative balance and morphology of the renal cortex of male Wistar rats. Two independent protocols were used. First, pregnant Wistar rats received diets containing either 17% (normal protein) or 8% (low protein) casein throughout pregnancy and lactation. Second, the litter size was reduced by one-third on the third postnatal day to induce overnourishment in offspring. In experimental age, the oxidative balance and morphology of the renal cortex analyses were performed in the kidney cortex. Results showed small but significant increase in renal corpuscle area in low protein (LP, 5%) and overnutrition (ON, 8%). Glomerular tuft area also increases in LP (6%) and ON (9%), as did glomerular cellularity (LP +11% and ON, +12%). In the oxidative stress analyses, both nutritional insult significantly elevated lipid peroxidation (LP +18% and ON +135%) and protein oxidation (LP +40% and ON, +65%), while significantly reducing non-enzymatic antioxidant defenses measured by reduced glutathione (LP, -32%; ON, -45%) and total thiol content (LP, -28%; ON, -24%), respectively. In enzymatic defense we observe decrease in superoxide dismutase (LP -78% and ON -51%), catalase (LP -18% and ON -61%) and GST (only in ON -44%). Our results demonstrate that nutritional insults, even those of a very different nature, occurring during perinatal development can result in similar changes in oxidative parameters and glomerular morphology in the renal cortex.

Key words: low-protein diet, overnutrition, oxidative stress, kidney cortex

Introduction

According to the World Health Organization (WHO), non-communicable diseases (NCDs) present a rapidly increasing burden on public health as unhealthy western diets proliferate in recently developed countries at the same time that inadequate nutrition and starvation continue to afflict the still undeveloped world. On a global scale, cardiovascular diseases account for most NCD deaths, followed by cancers, respiratory diseases, and diabetes (WHO 2015). Several experimental studies have demonstrated the correlation between inadequate nutrition during the gestational and lactation periods and the genesis of cardiovascular, kidney and metabolic diseases (Paixao et al. 2001; Barker et al. 2002).

Inadequate nutrition can be categorized as either undernutrition, or overnutrition. Undernutrition is characterized by the insufficient intake of essential nutrients, which generally denotes inappropriate proportions of specific components, especially protein, in the diet (Morgane et al. 2002). Insufficient protein ingestion in humans has been associated with a predisposition to high blood pressure and cardiovascular disease in later life, and in an experimental rat model has been shown to upregulate the renin-angiotensin-aldosterone system in part by increasing the expression of the AT1R angiotensin receptor (Fanos et al. 2010). In developing countries, increased rates of overall undernutrition have been associated with increases in premature death in children (de Onis et al. 1993). Observations such as these underscore the critical health problem that undernutrition remains in the underdeveloped world (Turkmen 2017; Yildirim et al. 2017). On the other hand, overnutrition is characterized by excess intake of one or more dietary components, primarily carbohydrates and fatty acids. Currently, overnutrition is a concern in developing as well as developed countries. As extensively documented in the epidemiologic literature, obesity-induced by overnutrition during childhood is strongly associated with an increased risk of cardiovascular and kidney disease (Turkmen 2017).

Kidney disease and cardiac disease are often closely intertwined, with the malfunction of one organ system severely impairing the functioning of the other (Iversen et al. 1998; Paixao et al. 2001). Clinical and experimental evidence suggest that oxidative stress is, at least in part, an underlying mechanism in the etiology of kidney dysfunction (Turkmen 2017; Yildirim et al. 2017). Oxidative

stress is characterized by a chronic imbalance between production and removal of reactive oxygen species (ROS), resulting in cell and tissue damage in the affected organ (Rajendran et al. 2014). In the kidney, oxidative stress has been shown to impair the production of both renin (and thus angiotensin II downstream of renin release) and nitric oxide, to result in alterations of cardiovascular function (Laragh 1992).

We hypothesize based on the current literature that regardless of the type of nutritional insult, for example either low protein in the mother's diet during gestation and lactation, or overnourishment during early childhood, that an unhealthy diet during development can induce changes in the oxidative state and glomerular morphology of the renal cortex that may be factors in the occurrence of renal disease in adulthood. To test our hypothesis the present study aimed to evaluate short-term effects of either a maternal low protein diet or neonatal overnutrition in male Wistar rats, during development on glomerular morphology and oxidative stress in the kidney cortex.

Methods

The experimental protocol, (n° 23076.017806/2014-62), used in this study was approved by the Ethical Committee of the Biological Science Center at the Federal University of Pernambuco (UFPE), Brazil.

Experimental design and Diet

Maternal low-protein diet (experimental design 1): Pregnant Wistar rats (n= 6) were randomly divided into two experimental groups. In one, the normal protein group (NP; n=3), pregnant rats were fed with a 17% casein diet. The other group received a low protein (LP; n=3) diet containing only 8% casein. The standard and low protein diets were prepared as described in previous publication from our laboratory (Nascimento et al. 2014), which among others, have described maternal and offspring parameters, such as: food behavior, caloric intake, somatic characteristics, and biochemical

measurements (Lopes de Souza et al. 2008; Orozco-Solis et al. 2011; de Brito Alves et al. 2014; Barros et al. 2018). Both diets contained the same total energy content and were offered to the rats throughout gestation and lactation.

Neonatal overnutrition (experimental design 2): Plagemann's group demonstrated that a reduction in litter size induces a long-lasting condition of overweight/obesity due to increased milk availability and over-consumption due to a non-inhibitory mechanism of satiety in offspring. (Plagemann et al. 1992; Voits et al. 1996; Davidowa and Plagemann 2001; Li et al. 2002; Plagemann et al. 2009; Plagemann et al. 2010). The protocol used in the present study is based on the adjustment of maternal milk availability in the first days of lactation by manipulating litter size as described by Plagemann et al (1992). For this experimental design, was used dams (n=6) that deliver between 9-12 puppies, twenty-four hours after born, puppies were randomly distributed among the dams maintain 9 puppies per dams. On the third day of life, the male newborn rats assigned to the overnourished group (ON) were allocated to litters containing only 3 pups per mother, initiating a condition of neonatal overnutrition via greater access to the milk supply. The normal fed group, in contrast, consisted of newborn male rats assigned to litters with 9 puppies for each lactating dam (standard lactation). At 21 days of age, animals from all groups began receiving commercial laboratory chow (Labina-Purina®) and water *ad libitum* until 30 days of age, when they were euthanized by decapitation and the kidney cortex immediately removed for analyses.

We would emphasize here that owing to the two different experimental designs described above, the 'control' groups for the low maternal protein and the neonatal overnutrition groups, respectively, cannot be considered as identical and therefore we cannot compare all groups together using ANOVA. Thus, in these studies we use a 'normoprotein' control group to compare with the 'low maternal protein' animals and a 'normal fed' control group to compare with the overnutrition group, employing the Student t-test for each comparison. (Fig 1).

Body weight measurement:

The body weights of the male offspring were recorded on the 7th, 14th, 21st and 30th days of life using a digital scale (S-400, Marte, Brazil) with a maximum capacity of 400 grams.

Reagents

All reagents were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) (Sinc Pernambuco, Brazil).

Sample preparation for morphometry

The left kidney was removed and fixed with 10% neutral buffered formalin (NBF) at 4°C during a 24-hour period. After washing, the tissue samples were progressively dehydrated in a graded alcohol series before submitting them to xylol diaphorization. Sections of four-micron thickness were cut in a sagittal plane and fixed to glass microscope slides followed by staining with hematoxylin and eosin (H&E). Renal structural changes were evaluated with H & E; renal fibrosis was quantified in adjacent sections using a Picrosirius Red Staining (kit – Erviegas, Sao Paulo, Brazil) The samples were then examined using conventional light microscopy (Nikon Eclipse E200, São Paulo, Brazil), and images captured by a camera (Moticam 3000, Kowloon Bay, Hong Kong) were analyzed using Image J Pro Plus computer software 1.44 (Research Services Branch, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)(Alba-Loureiro et al. 2010). A total of 180 renal corpuscles were examined in each experimental group. The same observer, blinded to the identities of the experimental groups, performed the measurements of size and cellularity.

Sample preparation for oxidative stress and antioxidant analyses

Renal cortex was homogenized in cold buffer containing 50 mM TRIS and 1 mM EDTA, pH 7.4, 1 mM sodium orthovanadate and 200 µg/mL phenylmethanesulfonyl fluoride by using a IKA® RW 20 digital homogenizer, utilizing a potter-Elvehjem pestle and glass tubes on ice. Homogenates were

centrifuged at 1,180 g for 10 min at 4 °C. Protein contents of the homogenates were determined with the Bradford protein assay (Bradford 1976).

Evaluation of lipid peroxidation

A total of 0.250 mg/mL renal cortex homogenate was used to measure malondialdehyde production (MDA) in reaction with thiobarbituric acid (TBA) at 100°C. In brief, sequential addition of 30% trichloroacetic acid and Tris-HCl (3mM) to the sample was followed by thorough mixing and centrifugation at 2,500 g for 10 min. The resulting supernatant was transferred to another tube and 0.8% TBA (v/v) was added before mixing and boiling for 15 min. After cooling, the absorbance of the organic phase was read at 535 nm in a spectrophotometer (Buege and Aust 1978).

Determination of protein oxidation

Trichloroacetic acid (TCA) at 30% w/v was added to homogenates containing 400 mg protein/ml and kept on ice. Samples were then centrifuged for 4 min at 1,180 g and the pellets were suspended in 10 mM 2,4 dinitrophenylhydrazine and immediately placed in a darkroom for an 1 h incubation. Samples were then washed and centrifuged, and the final pellet suspended in 6M guanidine hydrochloride and incubated for 30 min at 37 °C. The final reaction product was measured at an absorbance of 370 nm (Reznick and Packer 1994).

Measurement of superoxide dismutase (SOD) activity

Total superoxide dismutase enzyme activity (t-SOD) was determined according to the method of Misra and Fridovich (Misra and Fridovich 1972). Supernatants (0.3 mg/mL) collected from homogenized tissues were incubated with 0.880 mL of sodium carbonate (0.05%, pH 10.2, 0.1 mmol/L EDTA) at 37° C. Thirty millimoles per liter of epinephrine (in 0.05% acetic acid) was added

and SOD activity was measured by the kinetics of inhibition of epinephrine auto-oxidation at 480 nm (Misra and Fridovich 1972).

Measurement of catalase (CAT) activity

The principle of this assay is based on determination of the rate constant (k) of H₂O₂ decomposition, which under our conditions of temperature (37° C) and pH, was defined as 4.6×10^7 . A total of 0.3 mg/ml of renal cortex homogenate was used to measure CAT activity. Briefly, 0.3M H₂O₂ was added to a mixture containing approximately 0.015 mL of homogenate and 50 mM phosphate buffer (pH 7.0). The absorbance was measured at 240 nm for 1 min (Aebi 1984).

Measurement of Glutathione S-transferase (GST) activity

A total of 0.3 mg/ml of renal cortex homogenate was used to measure GST activity, as previously described by Habig et al. (Habig et al. 1974). Briefly, phosphate buffer (0.1M, pH 6.5 containing 1mM EDTA) was added to the kidney samples after the addition of 1 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) and 1mM of reduced glutathione (GSH), and the absorbance at 340 nm was measured. GST activity was defined as the amount of protein required to form one μ mol of 2,4-Dinitrophenyl-S-glutathione (DNP-SG).

Measurement of reduced glutathione (GSH)

Homogenate samples (0.3 mg) were diluted 10-fold in a sodium phosphate buffer (pH 8.0) containing 5mM EDTA and then incubated with ortho-phthaldehyde (OPT-1mg/ml) for 15 min at room temperature (RT). Fluorescence of the reaction mix was measured at 350nm with an excitation wavelength of 420nm (Hissin and Hilf 1976).

Total sulfhydryl groups

Homogenate samples (0.3 mg) were incubated with 10 mM 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) at RT and in the dark for 30 min and the absorbance of the reaction mix at 412 nm was measured (Ellman 1959).

Statistical Analysis

All results are expressed as the mean $\pm$ SEM. A student's t-test was used to assess the difference in the measurement of each metabolic parameter between the inadequately nourished group (low protein or overnourished) and its respective control. All statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6.0 software (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) and the data was considered statistically significant if $p \leq 0.05$.

Results

Body weight

Body weight in the LP group remained significantly lower than NP control throughout the assessment period, reaching only 74%, 66% and 77% of NP at 14, 21, and 30 days, respectively. On the other hand, as expected, the ON group presented with higher body weight than the NF control group throughout the study, exceeding control value by 42%, 31%, and 28% at 14, 21, and 30 days, respectively (Fig 2.)

Renal Corpuscle Size and Cellularity

Figure 3 shows representative renal corpuscles in each group stained with H & E (A) or picosirius red (D). The differences in the cross-sectional areas of both the entire corpuscle (the area extending to Bowman's capsule) and the glomerular tuft (the area extending to the visceral layer of glomerular epithelium) are graphed in Fig 3 B and show that LP and ON increased renal corpuscle area by 5%

and 8%, respectively, compared with controls. Glomerular tuft areas saw similar significant increases in the abnormally nourished groups (LP, 6%; ON, 9% compared with respective controls) (Fig 3B). Glomerular cellularity, determined by counting intraglomerular nuclei, was increased by 11% and 12% in LP and ON, respectively (Fig 3C), while collagen content was increased by 3% and 6%, respectively (Fig 3E). The results showing that all four measurements of glomerulopathy were significantly increased by similar amounts in inadequately nourished animals (LP and ON groups) compared to controls suggests the possibility of a common underlying etiology.

Oxidative stress biomarkers

Figure 4 shows that both the LP and ON diets resulted in significant increases in oxidative damage to both lipids and proteins in the renal cortex compared to respective controls. MDA levels reflecting lipid peroxidation were increased modestly but significantly (+18%) in the LP animals and were more than doubled (+ 135%) in the ON group. Moreover, carbonyl content, a measure of protein damage, was increased by 40% in the LP animals, and by 65% in the ON group when compared to the respective control groups.

The antioxidant system

In the enzymatic system, SOD, CAT, and GST are responsible for the protection of cells from oxidative damage caused by ROS formation. Fig 5A shows that consistent with the increased oxidative damage to protein and lipid noted above, the activities of these antioxidant enzymes were overall significantly lower in the inadequately nourished animals compared to controls. Only GST measured in the LP group did not differ significantly from its measurement in normally fed animals (Fig 5A). SOD, on the other hand, was reduced by fully 78% in the protein-deprived animals. Overnourished animals displayed decreases of 51%, 61%, and 44% in SOD, CAT, and GST, respectively compared with normally fed controls (Fig 5A).

In addition to its control by the enzymatic system ROS-induced damage is also managed non-enzymatically, with GSH and the thiol group representing the two major compounds involved in reducing oxidative stress. Measurement of these two anti-oxidant compounds showed that non-enzymatic means of controlling oxidative stress in the renal cortex were also reduced with both protein restriction and overfeeding (Fig 5B and C). With maternal low protein, GSH levels in male offspring were reduced by 32% and total thiol content by 28%, respectively, and with neonatal overnutrition these antioxidants were reduced by 45% and 24%, respectively.

Discussion

The present study examined the short-term effects of either maternal low-protein or neonatal overnutrition on oxidative stress parameters in the renal cortex, and glomerular size and cellularity in male rat offspring. Comparison of animals, whose nutritional state was altered, with controls receiving adequate nutrition, showed that the renal cortex of both abnormally nourished groups suffered a similar type of damage, exhibiting both increased glomerular size and cellularity, and increased oxidative stress. Other measurements, however, were altered as expected: for example, protein restriction decreased rat body weights, while overnutrition increased them. Previous studies with experimental protocols similar to ours corroborate these results (Plagemann et al. 1999; Nascimento et al. 2014). In addition, it has been shown that lower body weight, as well as overweight during early development can affect nephrogenesis, causing structural changes in the renal corpuscle that can predispose the individual to renal failure and an increased risk of hypertension (Wlodek et al. 2008; Abitbol and Rodriguez 2012).

The present results show, in a controlled experiment with constant levels of perinatal exposure to either higher than normal caloric intake or the effects of lower than normal maternal protein, that an inadequate diet in either the neonate or the mother results in larger than normal renal corpuscles, irrespective of the nature of the dietary inadequacy. Overfed rats and rats affected by maternal low protein also presented with significantly increased glomerular tuft area as well as increases in

glomerular cellularity and collagen content that contribute to the glomerular hypertrophy. These results are in agreement with an earlier study showing that a low-protein/low vitamin and mineral diet during the prenatal period (*in utero* malnutrition) in male rats resulted in a significant 6% increase in cross-sectional glomerular area at adulthood (Paixao et al. 2001). On the other hand, protein deficiency *in utero* and during nursing, a regimen similar to ours, did not significantly alter glomerular cross-sectional area in the adult (Paixao et al. 2001). Nonetheless, as in the present study where tuft cellularity was increased by 11% with LP, Paixao et al (2001) found significant tuft hypercellularity (28% greater than control) in the *in utero*/post-natal low-protein group.

Our results for the overnourished group, on the other hand, resemble those of Boubred et al. (2007), who recorded increased glomerular volume in 22 month-old female rats that were overfed through a reduction in litter size. Since overfeeding lasted only until the rats were weaned at 21 days, the study of 22-mo old rats by Boubred et al (2007) clearly showed that even a short period of overnutrition during early post-natal development could result in an essentially permanent change in glomerular size, at least in females. Moreover, at 22-mo glomerular cell number remained significantly increased in both overfed males and females, but urinary protein excretion and glomerulosclerosis were elevated only in males. These gender-divergent results suggested that complex mechanisms involving changes in blood pressure, glomerular filtration rate, and sex hormones accompanied the glomerular effects of overfeeding to limit long-term renal damage to males but not females (Boubred et al. 2007). The results of the present study, showing increased glomerular area and cellularity occurring with both over-feeding and protein restriction at only 30 days of age, suggest that the glomerular damage observed in older animals overfed during the suckling period and normally fed thereafter (Boubred et al. 2007), may constitute an inevitable consequence of overfeeding during this critical developmental period. Extrapolating these findings to humans would suggest that very early intervention (i.e. *in utero* and immediately post-natal) to correct deficiencies in child nutrition is essential to a healthy adulthood (Luyckx et al. 2013).

The increased tuft cellularity that we observe in this study with either low protein or overnutrition is characteristic of many glomeruloproliferative diseases (Slauson and Lewis 1979) as is the increase in

collagen content, whose deposition by mesangial cells is one of the major causes of glomerular hypertrophy (Dugan et al. 2013). The present results showing significant increases in glomerular collagen content of 4% and 6% in LP and ON rats, respectively, suggests that a common process initiated by either LP or ON could underlie the pathology.

Extrapolating the nutrition-related changes in renal morphology we've observed here the possible pathophysiologic consequences, we suggest that both maternal LP and neonatal ON might result in a progressive glomerular damage that ultimately increases the risk for cardiac impairment. Specifically, our data showing increased collagen content and mesangioproliferation point to reduced glomerular perfusion in LP and ON animals, which can result in progressively increased glomerular pressure (Hughson et al. 2014). Furthermore, the glomerular hypertrophy we observe with either type of nutritional deficit could be indicative of a compensatory mechanism that responds to overall reduced glomerular filtration by enlarging the remaining functional renal corpuscles (Glasscock and Rule 2012).

Confirmation of a speculative link between LP or ON and cardiac disease will require further experimentation, however such research can be guided by the principle, strongly supported by the current study, that glomerular damage caused by either type of nutritional deficit likely shares common etiologic mechanisms. One such mechanism, triggered to roughly the same extent in both overfed and low protein individuals in the present study, is the increase in oxidative stress in the renal cortex as indicated by both increased lipid and protein oxidation in these animals. The effects of oxidative stress may be especially harmful in the kidney due to that organ's higher content of polyunsaturated fatty acids susceptible to lipid peroxidation in comparison with other organs (Das 2012). Among the mechanisms shown to contribute to renal damage downstream of lipid peroxidation is the activation of profibrotic factors such as TGF- β by oxidative stress (Liu and Gaston Pravia 2010), thus the increased presence of glomerular collagen in inadequately nourished animals observed here would suggest that oxidative stress-induced induction of these factors in LP and ON animals helps to translate changes in oxidative state into morphologic changes in the glomerulus.

In addition to the changes in oxidative stress noted above, the activities of both the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems, with few exceptions, were also compromised by protein restriction and overnutrition in the present study. Among these, SOD activity that converts superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) to hydrogen peroxide (H_2O_2) was decreased by over 50% in both experimental groups. Importantly, decreased SOD activity, has been associated with a greater ROS release rate, albumin excretion, and glomerular extracellular matrix expression, most of which is directly related to increased oxidative damage in the cell (Dugan et al. 2013; Feng et al. 2013). In regard to our above speculation that glomerular pressure is increased in LP and ON compared to controls, it is worth noting that the glomerular filtration rate depends to a large extent upon the generation of nitric oxide and the availability of other vasoactive compounds (Helal et al. 2012). Therefore the large reduction in superoxide dismutase activity that we observe with either low maternal protein or overnutrition and the subsequent reduction in the nitric oxide availability in the glomerulus (Alvarez and Radi 2003), could lead to an inhibition glomerular filtration, similar to what has been observed in obesity-related hypertension (Pecly et al. 2006).

The superoxide radical, after being dismutated to H_2O_2 , by SOD, is further reduced to H_2O by CAT. In the kidney, CAT plays an essential role in the resistance to hydrogen peroxide toxicity and oxidant injury, and its overexpression can prevent some proapoptotic events (Brezniceanu et al. 2007). Our data demonstrate that maternal low-protein and neonatal overnutrition decrease CAT activity, suggesting a compounding of oxidative damage due to superoxide by the reduction in the two enzyme activities. In the overnourished group only, we also observed a decrease in activity of GST, an enzyme that is deeply involved in the repair of macromolecules oxidized by ROS, in protein regeneration, and in the detoxification of both endogenous and exogenous toxic agents (Sheehan et al. 2001). It is a cytosolic enzyme found in high concentration in the kidney, and previous studies have shown a relationship between decreased GST activity and glomerular damage progressing to kidney failure (Gilbert and Cooper 1999; von Scholten et al. 2014). The significance of the difference between LP and ON in inhibiting GST is difficult to understand in light of the many similarities between the two in affecting the other antioxidant systems, both enzymatic and non-enzymatic. It

could indicate that intracellular regulation of GST activity by nutrition follows different downstream pathways based on the precise nature of the nutritional insult.

The non-enzymatic antioxidant system as measured by GSH concentration and thiol content was, like the enzymatic system, altered in the same direction by LP and ON (States et al. 1987; Baynes and Thorpe 1999). Thus it can be assumed that the amount of pathological molecular damage related to oxidative stress would be similar under either experimental condition (Bray and Taylor 1993; Baynes and Thorpe 1999).

In conclusion, our data indicate that very different nutritional inadequacies, protein deprivation and overfeeding, during a critical pre-natal/perinatal period of development in the male rat result in oxidative damage in the renal cortex. The oxidative damage is accompanied by significant alterations in renal morphology and increased deposition of glomerular collagen within only one week after weaning. We suggest that the early changes in renal form and function could persist into adulthood and predispose individuals suffering from perinatal malnutrition to the development of renal and kidney-associated diseases.

Acknowledgements

The authors are thankful to FACEPE (Foundation for the Support of Science and Research from Pernambuco State, Brazil) for the financial support to acquire the equipment and reagents used in this work.

Conflict of Interest

The authors have no conflicts of interest to report.

References

- Abitbol, C.L. and Rodriguez, M.M. 2012. The long-term renal and cardiovascular consequences of prematurity. **Nat. Rev. Nephrol.** 8: 265-74. doi:10.1038/nrneph.2012.38.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. **Methods. Enzymol.** 105: 121-6.
- Alba-Loureiro, T.C., Ribeiro, R.F., Zorn, T.M., and Lagranha, C.J. 2010. Effects of glutamine supplementation on kidney of diabetic rat. **Amino Acids**, 38: 1021-30. doi:10.1007/s00726-009-0310-3.
- Alvarez, B. and Radi, R. 2003. Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins. **Amino Acids**, 25: 295-311. doi:10.1007/s00726-003-0018-8.
- Barker, D.J., Forsen, T., Eriksson, J.G., and Osmond, C. 2002. Growth and living conditions in childhood and hypertension in adult life: a longitudinal study. **J. Hypertens.** 20: 1951-6.
- Barros, M.A.V., Andrade, E.B., Barros, R.G.N., Costa, I.K.M., Costa, I.C.L., Vitorino, G.F.A., et al. 2018. Low-protein diet does not alter reproductive, biochemical, and hematological parameters in pregnant Wistar rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 51: e6602. doi:10.1590/1414-431x20186602.
- Baynes, J.W. and Thorpe, S.R. 1999. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. **Diabetes**, 48: 1-9.
- Boubred, F., Buffat, C., Feuerstein, J.M., Daniel, L., Tsimaratos, M., Oliver, C., et al. 2007. Effects of early postnatal hypernutrition on nephron number and long-term renal function and structure in rats. **Am. J. Physiol. Renal. Physiol.** 293: F1944-9. doi:10.1152/ajprenal.00141.2007.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** 72: 248-54.
- Bray, T.M. and Taylor, C.G. 1993. Tissue glutathione, nutrition, and oxidative stress. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 71: 746-51.
- Brezniceanu, M.L., Liu, F., Wei, C.C., Tran, S., Sachetelli, S., Zhang, S.L., et al. 2007. Catalase overexpression attenuates angiotensinogen expression and apoptosis in diabetic mice. **Kidney Int.** 71: 912-23. doi:10.1038/sj.ki.5002188.
- Buege, J.A. and Aust, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol.** 52: 302-10.
- Das, S.K. 2012. Free radicals, antioxidants and nutraceuticals in health, disease & radiation biology. Preface. **Indian J. Biochem. Biophys.** 49: 291-2.

- Davidowa, H. and Plagemann, A. 2001. Inhibition by insulin of hypothalamic VMN neurons in rats overweight due to postnatal overfeeding. **Neuroreport**. 12: 3201-4.
- de Brito Alves, J.L., Nogueira, V.O., de Oliveira, G.B., da Silva, G.S., Wanderley, A.G., Leandro, C.G., et al. 2014. Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O₂/CO₂ chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. **Br. J. Nutr.** 111: 606-15. doi:10.1017/S0007114513002833.
- de Onis, M., Monteiro, C., Akre, J., and Glugston, G. 1993. The worldwide magnitude of protein-energy malnutrition: an overview from the WHO Global Database on Child Growth. **Bull. World Health Organ.** 71: 703-12.
- Dugan, L.L., You, Y.H., Ali, S.S., Diamond-Stanic, M., Miyamoto, S., DeClevés, A.E., et al. 2013. AMPK dysregulation promotes diabetes-related reduction of superoxide and mitochondrial function. **J. Clin. Invest.** 123: 4888-99. doi:10.1172/JCI66218.
- Ellman, G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. **Arch. Biochem. Biophys.** 82: 70-7.
- Fanos, V., Puddu, M., Reali, A., Atzei, A., and Zaffanello, M. 2010. Perinatal nutrient restriction reduces nephron endowment increasing renal morbidity in adulthood: a review. **Early. Hum. Dev.** 86 Suppl 1: 37-42. doi:10.1016/j.earlhumdev.2010.01.007.
- Feng, B., Ruiz, M.A., and Chakrabarti, S. 2013. Oxidative-stress-induced epigenetic changes in chronic diabetic complications. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 91: 213-20. doi:10.1139/cjpp-2012-0251.
- Gilbert, R.E. and Cooper, M.E. 1999. The tubulointerstitium in progressive diabetic kidney disease: more than an aftermath of glomerular injury? **Kidney Int.** 56: 1627-37. doi:10.1046/j.1523-1755.1999.00721.x.
- Glasscock, R.J. and Rule, A.D. 2012. The implications of anatomical and functional changes of the aging kidney: with an emphasis on the glomeruli. **Kidney Int.** 82: 270-7. doi:10.1038/ki.2012.65.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., and Jakoby, W.B. 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **J. Biol. Chem.** 249: 7130-9.

- Helal, I., Fick-Brosnahan, G.M., Reed-Gitomer, B., and Schrier, R.W. 2012. Glomerular hyperfiltration: definitions, mechanisms and clinical implications. **Nat. Rev. Nephrol.** 8: 293-300. doi:10.1038/nrneph.2012.19.
- Hissin, P.J. and Hilf, R. 1976. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Anal. Biochem.** 74: 214-26.
- Hughson, M.D., Puelles, V.G., Hoy, W.E., Douglas-Denton, R.N., Mott, S.A., and Bertram, J.F. 2014. Hypertension, glomerular hypertrophy and nephrosclerosis: the effect of race. **Nephrol. Dial. Transplant**, 29: 1399-409. doi:10.1093/ndt/gft480.
- Iversen, B.M., Amann, K., Kvam, F.I., Wang, X., and Ofstad, J. 1998. Increased glomerular capillary pressure and size mediate glomerulosclerosis in SHR juxtamedullary cortex. **Am. J. Physiol.** 274: F365-73.
- Laragh, J.H. 1992. Role of renin secretion and kidney function in hypertension and attendant heart attack and stroke. **Clin. Exp. Hypertens. A.** 14: 285-305.
- Li, Y., Plagemann, A., and Davidowa, H. 2002. Increased inhibition by agouti-related peptide of ventromedial hypothalamic neurons in rats overweight due to early postnatal overfeeding. **Neurosci. Lett.** 330: 33-6. doi:S030439400200722X [pii].
- Liu, R.M. and Gaston Pravia, K.A. 2010. Oxidative stress and glutathione in TGF-beta-mediated fibrogenesis. **Free Radic. Biol. Med.** 48: 1-15. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.09.026.
- Lopes de Souza, S., Orozco-Solis, R., Grit, I., Manhaes de Castro, R., and Bolanos-Jimenez, F. 2008. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **Eur J. Neurosci.** 27: 1400-8. doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06105.x.
- Luyckx, V.A., Bertram, J.F., Brenner, B.M., Fall, C., Hoy, W.E., Ozanne, S.E., et al. 2013. Effect of fetal and child health on kidney development and long-term risk of hypertension and kidney disease. **Lancet**, 382: 273-83. doi:10.1016/S0140-6736(13)60311-6.
- Misra, H.P. and Fridovich, I. 1972. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J. Biol. Chem.** 247: 3170-5.
- Morgane, P.J., Mokler, D.J., and Galler, J.R. 2002. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 26: 471-83.

- Nascimento, L., Freitas, C.M., Silva-Filho, R., Leite, A.C., Silva, A.B., da Silva, A.I., et al. 2014. The effect of maternal low-protein diet on the heart of adult offspring: role of mitochondria and oxidative stress. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.** 39: 880-7. doi:10.1139/apnm-2013-0452.
- Orozco-Solis, R., Matos, R.J., Lopes de Souza, S., Grit, I., Kaeffer, B., Manhaes de Castro, R., et al. 2011. Perinatal nutrient restriction induces long-lasting alterations in the circadian expression pattern of genes regulating food intake and energy metabolism. **Int. J. Obes. (Lond)** 35: 990-1000. doi:10.1038/ijo.2010.223.
- Paixao, A.D., Maciel, C.R., Teles, M.B., and Figueiredo-Silva, J. 2001. Regional Brazilian diet-induced low birth weight is correlated with changes in renal hemodynamics and glomerular morphometry in adult age. **Biol. Neonate**, 80: 239-46. doi:47150.
- Pecly, I.M., Genelhu, V., and Francischetti, E.A. 2006. Renal functional reserve in obesity hypertension. **Int. J. Clin. Pract.** 60: 1198-203. doi:10.1111/j.1742-1241.2006.01037.x.
- Plagemann, A., Harder, T., Brunn, M., Harder, A., Roepke, K., Wittrock-Staar, M., et al. 2009. Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. **J. Physiol.** 587: 4963-76. doi:10.1113/jphysiol.2009.176156
- jphysiol.2009.176156 [pii].
- Plagemann, A., Harder, T., Rake, A., Waas, T., Melchior, K., Ziska, T., et al. 1999. Observations on the orexigenic hypothalamic neuropeptide Y-system in neonatally overfed weanling rats. **J. Neuroendocrinol.** 11: 541-6.
- Plagemann, A., Heidrich, I., Gotz, F., Rohde, W., and Dorner, G. 1992. Obesity and enhanced diabetes and cardiovascular risk in adult rats due to early postnatal overfeeding. **Exp. Clin. Endocrinol.** 99: 154-8. doi:10.1055/s-0029-1211159.
- Plagemann, A., Roepke, K., Harder, T., Brunn, M., Harder, A., Wittrock-Staar, M., et al. 2010. Epigenetic malprogramming of the insulin receptor promoter due to developmental overfeeding. **J. Perinat. Med.** 38: 393-400. doi:10.1515/JPM.2010.051.

- Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E.N., Lakshminarasiah, U., et al. 2014. Antioxidants and human diseases. **Clin. Chim. Acta**, 436: 332-47. doi:10.1016/j.cca.2014.06.004.
- Reznick, A.Z. and Packer, L. 1994. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods Enzymol.** 233: 357-63.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V.M., and Dowd, C.A. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. **Biochem. J.** 360: 1-16.
- Slauson, D.O. and Lewis, R.M. 1979. Comparative pathology of glomerulonephritis in animals. **Vet. Pathol.** 16: 135-64. doi:10.1177/030098587901600201.
- States, B., Foreman, J.W., and Segal, S. 1987. Cysteine and glutathione levels in developing rat kidney and liver. **Pediatr. Res.** 22: 605-8. doi:10.1203/00006450-198711000-00025.
- Turkmen, K. 2017. Inflammation, oxidative stress, apoptosis, and autophagy in diabetes mellitus and diabetic kidney disease: the Four Horsemen of the Apocalypse. **Int. Urol. Nephrol.** 49: 837-844. doi:10.1007/s11255-016-1488-4.
- Voits, M., Forster, S., Rodel, S., Voigt, J.P., Plagemann, A., and Fink, H. 1996. Obesity induced by unspecific early postnatal overfeeding in male and female rats: hypophagic effect of CCK-8S. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.** 354: 374-8.
- von Scholten, B.J., Theilade, S., Lajer, M., and Rossing, P. 2014. Urinary alpha- and pi-glutathione s-transferases in adult patients with type 1 diabetes. **Nephron Extra**, 4: 127-33. doi:10.1159/000365481.
- WHO 2015. Noncommunicable diseases. **World Health Organization**.
- Wlodek, M.E., Westcott, K., Siebel, A.L., Owens, J.A., and Moritz, K.M. 2008. Growth restriction before or after birth reduces nephron number and increases blood pressure in male rats. **Kidney Int.** 74: 187-95. doi:10.1038/ki.2008.153.
- Yildirim, M., Karahan, M., Kucuk, H.F., Demir, T., Demir, H., Turan, H., et al. 2017. Increased Oxidative Stress in Living Kidney Donors: Correlation of Renal Functions With Antioxidant Capacity. **Transplant. Proc.** 49: 407-410. doi:10.1016/j.transproceed.2017.01.028.

1 Figure captions

2 **Fig 1.** Graphical abstract: Diagram represents the experimental designs and main findings of the
3 study.

4

5 **Fig 2.** Body weight: Differences in body weight during early development (14, 21 and 30 days
6 of life) in male offspring of mothers were fed with either a normal protein diet or a low protein
7 diet (left); male rats receiving normal nutrition vs overnutrition during early development
8 (right) Data presented as mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

9

10 **Fig 3.** Renal corpuscle morphology: Images of renal corpuscles from male rats with normal
11 protein mothers, or low protein mothers, and of male rats that were normally fed or
12 overnourished during early development. Hematoxylin & eosin stain (A) and picosirius red stain
13 (D). B) Bar graphs of measurements of renal corpuscular and glomerular tuft area as described
14 in Materials and Methods; C) Number of nuclei per glomerulus. E) Bar graphs of the percentage
15 of collagen in glomerulus in each group. Data were analyzed by light microscopy $\times 400$, and
16 bars represent the mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

17

18 **Fig 4.** Oxidative stress biomarkers in the renal cortex: Bar graphs of lipid peroxidation
19 measured by MDA, and protein oxidation measured by carbonyl in male offspring of normal
20 protein vs low protein mothers, or normally fed vs overnourished neonates. Data presented as
21 mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$.

22

23 **Fig 5.** Enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity in the renal cortex: Bar graphs
24 enzymatic activities in male offspring of mothers fed with normal protein vs low protein; or
25 male rats normally fed vs overnourished during the neonatal period. A) Superoxide dismutase
26 (SOD), catalase (CAT), and Glutathione-S-Transferase (GST) activities; B) GSH; C) Thiol
27 content. Data presented as mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

28

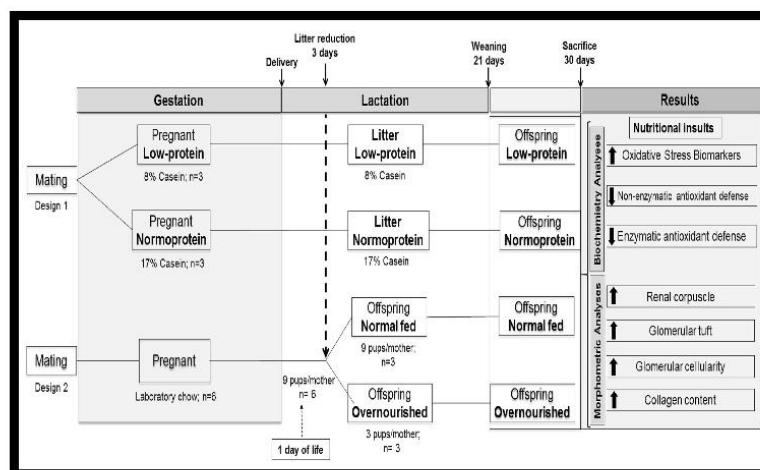


Figure 1. Graphical abstract: Diagram represents the experimental designs and main findings of the study.

301x184mm (300 x 300 DPI)

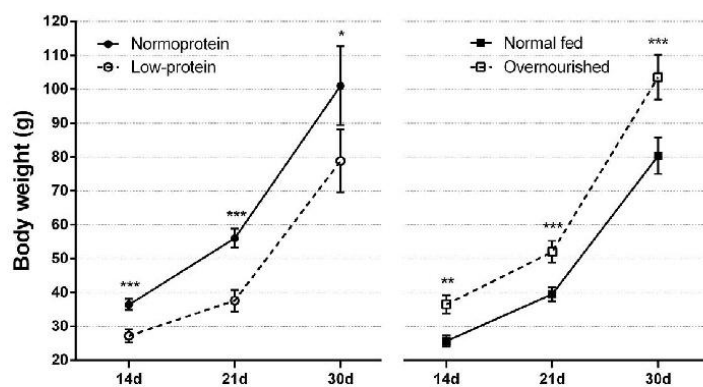


Figure 2. Body weight: Differences in body weight during early development (14, 21 and 30 days of life) in male offspring of mothers were fed with either a normal protein diet or a low protein diet (left); male rats receiving normal nutrition vs overnutrition during early development (right) Data presented as mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

102x54mm (300 x 300 DPI)

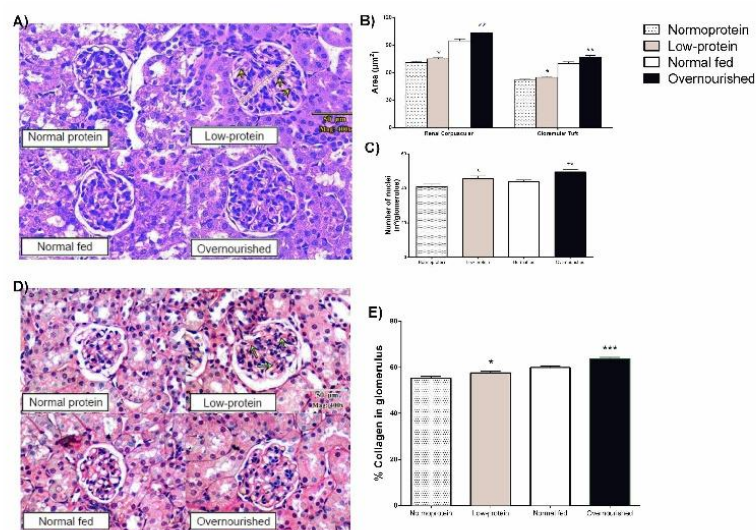


Figure 3. Renal corpuscle morphology: Images of renal corpuscles from male rats with normal protein mothers, or low protein mothers, and of male rats that were normally fed or overnourished during early development. Hematoxylin & eosin stain (A) and picosirius red stain (D). B) Bar graphs of measurements of renal corpuscular and glomerular tuft area as described in Materials and Methods; C) Number of nuclei per glomerulus. E) Bar graphs of the percentage of collagen in glomerulus in each group. Data were analyzed by light microscopy $\times 400$, and bars represent the mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

193x136mm (300 x 300 DPI)

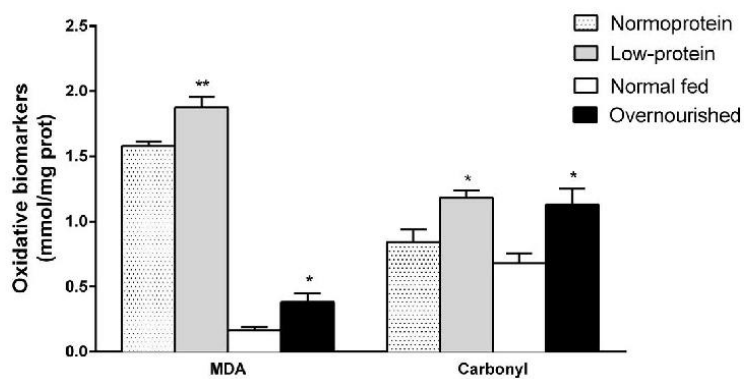


Figure 4. Oxidative stress biomarkers in the renal cortex: Bar graphs of lipid peroxidation measured by MDA, and protein oxidation measured by carbonyl in male offspring of normal protein vs low protein mothers; or normally fed vs overnourished neonates. Data presented as mean $\pm$ SEM. * $p\leq 0.05$; ** $p\leq 0.01$.

94x48mm (300 x 300 DPI)

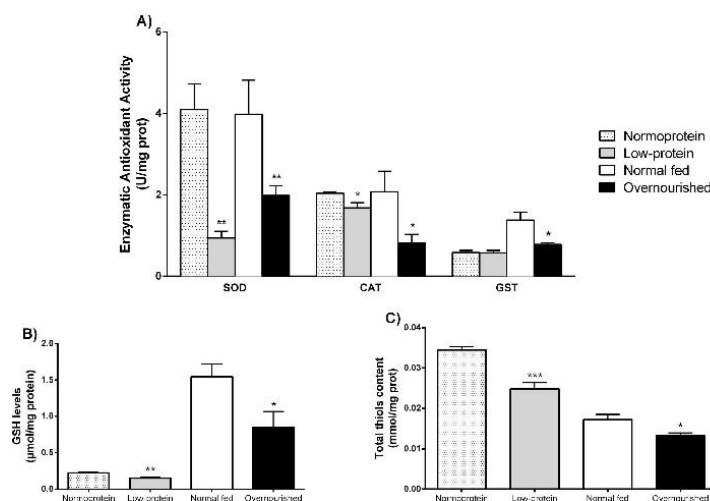


Figure 5. Enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity in the renal cortex: Bar graphs enzymatic activities in male offspring of mothers fed with normal protein vs low protein; or male rats normally fed vs overnourished during the neonatal period. A) Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and Glutathione-S-Transferase (GST) activities; B) GSH; C) Thiol content. Data presented as mean $\pm$ SEM. * $p \leq 0.05$. ** $p \leq 0.01$. *** $p \leq 0.001$.

182x123mm (300 x 300 DPI)

5 CONCLUSÕES

Nossos dados sugerem que o insulto nutricional, seja ela por restrição no conteúdo de proteínas ou pelo excesso de nutrientes no período crítico do desenvolvimento, provoca alterações nas estruturas glomerulares renais. De acordo com nossos dados, sugerimos que tais alterações ocorram devido ao aumento no estresse oxidativo do córtex renal, o que pode ser o mecanismo fisiopatológico para o surgimento de doenças renais e cardiovasculares na vida adulta.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, A.; TAWFIK, J. The anatomy and histology of the kidney of sand rats (*Psammomys obesus*). **Z Versuchstierkd**, v. 11, n. 5, p. 261-75, 1969. ISSN 0044-3697 (Print)
0044-3697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5405613> >.
- ABDULNOUR-NAKHOUL, S. et al. Ion transport mechanisms linked to bicarbonate secretion in the esophageal submucosal glands. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 301, n. 1, p. R83-96, Jul 2011. ISSN 1522-1490 (Electronic)
0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21474426> >.
- ABEL, R. M. et al. Adverse hemodynamic and ultrastructural changes in dog hearts subjected to protein-calorie malnutrition. **Am Heart J**, v. 97, n. 6, p. 733-44, Jun 1979. ISSN 0002-8703 (Print)
0002-8703 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/107775> >.
- ABRAHAMSON, D. R. Origin of the glomerular basement membrane visualized after in vivo labeling of laminin in newborn rat kidneys. **J Cell Biol**, v. 100, n. 6, p. 1988-2000, Jun 1985. ISSN 0021-9525 (Print)
0021-9525 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3889015> >.
- ALLEN, F.; TISHER, C. C. Morphology of the ascending thick limb of Henle. **Kidney Int**, v. 9, n. 1, p. 8-22, Jan 1976. ISSN 0085-2538 (Print)
0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/181632> >.
- ALMEIDA, M. M. et al. Perinatal maternal high-fat diet induces early obesity and sex-specific alterations of the endocannabinoid system in white and brown adipose tissue of weanling rat offspring. **Br J Nutr**, v. 118, n. 10, p. 788-803, Nov 2017. ISSN 1475-2662 (Electronic)
0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29110748> >.
- ANNUK, M. et al. Oxidative stress markers in pre-uremic patients. **Clin Nephrol**, v. 56, n. 4, p. 308-14, Oct 2001. ISSN 0301-0430 (Print)
0301-0430 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11680661> >.
- ARCHIBALD, A. J.; DOLINSKY, V. W.; AZAD, M. B. Early-Life Exposure to Non-Nutritive Sweeteners and the Developmental Origins of Childhood Obesity: Global Evidence from Human and Rodent Studies. **Nutrients**, v. 10, n. 2, Feb 10 2018. ISSN 2072-6643 (Electronic)
2072-6643 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29439389> >.
- AUKLAND, K. Is extracellular fluid volume regulated? **Acta Physiol Scand Suppl**, v. 583, p. 59-67, 1989a. ISSN 0302-2994 (Print)
0302-2994 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2683587> >.
- _____. Myogenic mechanisms in the kidney. **J Hypertens Suppl**, v. 7, n. 4, p. S71-6; discussion S77, Sep 1989b. ISSN 0952-1178 (Print)
0952-1178 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2681599> >.

- BACK, T. et al. Glomerular filtration rate after alpha-radioimmunotherapy with ^{211}At -MX35-F(ab')₂: a long-term study of renal function in nude mice. **Cancer Biother Radiopharm**, v. 24, n. 6, p. 649-58, Dec 2009. ISSN 1557-8852 (Electronic) 1084-9785 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20025544> >.
- BADR, G.; MOHANY, M. Maternal perinatal undernutrition attenuates T-cell function in adult male rat offspring. **Cell Physiol Biochem**, v. 27, n. 3-4, p. 381-90, 2011. ISSN 1421-9778 (Electronic) 1015-8987 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21471727> >.
- BARBERO, A. et al. Changes in renal hemodynamics of undernourished fetuses appear earlier than IUGR evidences. **J Dev Orig Health Dis**, p. 1-6, Jan 28 2018. ISSN 2040-1752 (Electronic) 2040-1744 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29374502> >.
- BARKER, D. J. et al. Growth and living conditions in childhood and hypertension in adult life: a longitudinal study. **J Hypertens**, v. 20, n. 10, p. 1951-6, Oct 2002. ISSN 0263-6352 (Print) 0263-6352 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12359972> >.
- BARKER, D. J. et al. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. **Lancet**, v. 2, n. 8663, p. 577-80, Sep 9 1989. ISSN 0140-6736 (Print) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2570282> >.
- BARNES, J. L.; GORIN, Y. Myofibroblast differentiation during fibrosis: role of NAD(P)H oxidases. **Kidney Int**, v. 79, n. 9, p. 944-56, May 2011. ISSN 1523-1755 (Electronic) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21307839> >.
- BARNETT, R. et al. Comparison of glomerular and mesangial prostaglandin synthesis and glomerular contraction in two rat models of diabetes mellitus. **Diabetes**, v. 36, n. 12, p. 1468-75, Dec 1987. ISSN 0012-1797 (Print) 0012-1797 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3119406> >.
- BATESON, P. et al. Developmental plasticity and human health. **Nature**, v. 430, n. 6998, p. 419-21, Jul 22 2004. ISSN 1476-4687 (Electronic) 0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15269759> >.
- BERGERON, M. et al. Three-dimensional characteristics of the mitochondria of the rat nephron. **Kidney Int**, v. 17, n. 2, p. 175-85, Feb 1980. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6155506> >.
- BERGLUND, S. K. et al. Maternal, fetal and perinatal alterations associated with obesity, overweight and gestational diabetes: an observational cohort study (PREOBE). **BMC Public Health**, v. 16, p. 207, Mar 1 2016. ISSN 1471-2458 (Electronic) 1471-2458 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26931143> >.
- BRAY, G. A. Complications of obesity. **Ann Intern Med**, v. 103, n. 6 (Pt 2), p. 1052-62, Dec 1985. ISSN 0003-4819 (Print) 0003-4819 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4062125> >.

BRESLOW, L. Public health aspects of weight control. **Am J Public Health Nations Health**, v. 42, n. 9, p. 1116-20, Sep 1952. ISSN 0002-9572 (Print) 0002-9572 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12976585> >.

BURNS, R. A. Reconstruction of the lower ureters by a tube made from bladder flaps: a case report. **Trans West Sect Am Urol Assoc**, v. 22, p. 32-7; discussion, 38-9, Jan 24-27 1955. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13247357> >.

CAPPELLI, A. P. G. et al. Reduced glucose-induced insulin secretion in low-protein-fed rats is associated with altered pancreatic islets redox status. **J Cell Physiol**, v. 233, n. 1, p. 486-496, Jan 2018. ISSN 1097-4652 (Electronic) 0021-9541 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28370189> >.

CASTROP, H. et al. Impairment of tubuloglomerular feedback regulation of GFR in ecto-5'-nucleotidase/CD73-deficient mice. **J Clin Invest**, v. 114, n. 5, p. 634-42, Sep 2004. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15343381> >.

CHANG, T. J. et al. Relationship between body mass index and renal function deterioration among the Taiwanese chronic kidney disease population. **Sci Rep**, v. 8, n. 1, p. 6908, May 2 2018. ISSN 2045-2322 (Electronic) 2045-2322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29720598> >.

CHEN, S.; JIM, B.; ZIYADEH, F. N. Diabetic nephropathy and transforming growth factor-beta: transforming our view of glomerulosclerosis and fibrosis build-up. **Semin Nephrol**, v. 23, n. 6, p. 532-43, Nov 2003. ISSN 0270-9295 (Print) 0270-9295 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14631561> >.

CHICO, L. et al. Physical exercise and oxidative stress in muscular dystrophies: is there a good balance? **Arch Ital Biol**, v. 155, n. 1-2, p. 11-24, Jul 1 2017. ISSN 0003-9829 (Print) 0003-9829 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28715594> >.

COLAVITTI, R.; FINKEL, T. Reactive oxygen species as mediators of cellular senescence. **IUBMB Life**, v. 57, n. 4-5, p. 277-81, Apr-May 2005. ISSN 1521-6543 (Print) 1521-6543 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16036611> >.

COLDITZ, G. A. et al. Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. **Am J Epidemiol**, v. 132, n. 3, p. 501-13, Sep 1990. ISSN 0002-9262 (Print) 0002-9262 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2389754> >.

COLLDEN, G. et al. Neonatal overnutrition causes early alterations in the central response to peripheral ghrelin. **Mol Metab**, v. 4, n. 1, p. 15-24, Jan 2015. ISSN 2212-8778 (Print) 2212-8778 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25685686> >.

CONSTANTINOU, C. E. Renal pelvic pacemaker control of ureteral peristaltic rate. **Am J Physiol**, v. 226, n. 6, p. 1413-9, Jun 1974. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4833997> >.

COSTANTINI, F.; KOPAN, R. Patterning a complex organ: branching morphogenesis and nephron segmentation in kidney development. **Dev Cell**, v. 18, n. 5, p. 698-712, May 18 2010. ISSN 1878-1551 (Electronic) 1534-5807 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20493806> >.

COWLEY, A. W., JR.; ROMAN, R. J. The role of the kidney in hypertension. **JAMA**, v. 275, n. 20, p. 1581-9, May 22-29 1996. ISSN 0098-7484 (Print) 0098-7484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8622250> >.

CUSUMANO, A. M. et al. Glomerular hypertrophy is associated with hyperinsulinemia and precedes overt diabetes in aging rhesus monkeys. **Am J Kidney Dis**, v. 40, n. 5, p. 1075-85, Nov 2002. ISSN 1523-6838 (Electronic) 0272-6386 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407654> >.

DA SILVA BARRETO, J. et al. Induction of oxidative stress by chlorothalonil in the estuarine polychaete *Laeonereis acuta*. **Aquat Toxicol**, v. 196, p. 1-8, Mar 2018. ISSN 1879-1514 (Electronic) 0166-445X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29310040> >.

DAEHN, I. et al. Endothelial mitochondrial oxidative stress determines podocyte depletion in segmental glomerulosclerosis. **J Clin Invest**, v. 124, n. 4, p. 1608-21, Apr 2014. ISSN 1558-8238 (Electronic) 0021-9738 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24590287> >.

DAGHER, Z. et al. The Increased Transforming Growth Factor-beta Signaling Induced by Diabetes Protects Retinal Vessels. **Am J Pathol**, v. 187, n. 3, p. 627-638, Mar 2017. ISSN 1525-2191 (Electronic) 0002-9440 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28162229> >.

DAVIDOWA, H.; PLAGEMANN, A. Decreased inhibition by leptin of hypothalamic arcuate neurons in neonatally overfed young rats. **Neuroreport**, v. 11, n. 12, p. 2795-8, Aug 21 2000. ISSN 0959-4965 (Print) 0959-4965 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10976965> >.

DE ONIS, M. et al. The worldwide magnitude of protein-energy malnutrition: an overview from the WHO Global Database on Child Growth. **Bull World Health Organ**, v. 71, n. 6, p. 703-12, 1993. ISSN 0042-9686 (Print) 0042-9686 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8313488> >.

DERUBERTIS, F. R.; CRAVEN, P. A.; MELHEM, M. F. Acceleration of diabetic renal injury in the superoxide dismutase knockout mouse: effects of tempol. **Metabolism**, v. 56, n. 9, p. 1256-64, Sep 2007. ISSN 0026-0495 (Print) 0026-0495 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17697870> >.

DESAI, M. et al. Permanent reduction in heart and kidney organ growth in offspring of undernourished rat dams. **Am J Obstet Gynecol**, v. 193, n. 3 Pt 2, p. 1224-32, Sep 2005. ISSN 0002-9378 (Print) 0002-9378 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16157142> >.

DING, W.; CHEUNG, W. W.; MAK, R. H. Impact of obesity on kidney function and blood pressure in children. **World J Nephrol**, v. 4, n. 2, p. 223-9, May 06 2015. ISSN 2220-6124 (Print)
2220-6124 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25949935> >.

DOBBING, J. The Influence of Early Nutrition on the Development and Myelination of the Brain. **Proc R Soc Lond B Biol Sci**, v. 159, p. 503-9, Feb 18 1964. ISSN 0950-1193 (Print)
0950-1193 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14116017> >.

DOBBING, J.; SANDS, J. Cell size and cell number in tissue growth and development. An old hypothesis reconsidered. **Arch Fr Pediatr**, v. 42, n. 3, p. 199-203, Mar 1985. ISSN 0003-9764 (Print)
0003-9764 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4004482> >.

DORUP, J. Ultrastructure of three-dimensionally localized distal nephron segments in superficial cortex of the rat kidney. **J Ultrastruct Mol Struct Res**, v. 99, n. 2, p. 169-87, May 1988. ISSN 0889-1605 (Print)
0889-1605 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3171250> >.

DUDLEY, A. T.; GODIN, R. E.; ROBERTSON, E. J. Interaction between FGF and BMP signaling pathways regulates development of metanephric mesenchyme. **Genes Dev**, v. 13, n. 12, p. 1601-13, Jun 15 1999. ISSN 0890-9369 (Print)
0890-9369 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10385628> >.

DUGAN, L. L. et al. AMPK dysregulation promotes diabetes-related reduction of superoxide and mitochondrial function. **J Clin Invest**, v. 123, n. 11, p. 4888-99, Nov 2013. ISSN 1558-8238 (Electronic)
0021-9738 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24135141> >.

EDVARDSSON, V. O. et al. Birth weight and childhood blood pressure. **Curr Hypertens Rep**, v. 14, n. 6, p. 596-602, Dec 2012. ISSN 1534-3111 (Electronic)
1522-6417 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23054892> >.

EMERY, J. L.; MITHAL, A. The weights of kidneys in late intrauterine life and childhood. **J Clin Pathol**, v. 13, p. 490-3, Nov 1960. ISSN 0021-9746 (Print)
0021-9746 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13726620> >.

ERASLAN, G. et al. Effect on oxidative stress, hepatic chemical metabolizing parameters, and genotoxic damage of mad honey intake in rats. **Hum Exp Toxicol**, p. 960327117745691, Jan 1 2017. ISSN 1477-0903 (Electronic)
0960-3271 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29271245> >.

ERIKSSON, J. G. et al. Early growth, adult income, and risk of stroke. **Stroke**, v. 31, n. 4, p. 869-74, Apr 2000. ISSN 0039-2499 (Print)
0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10753990> >.

EVANS, J. L. et al. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. **Endocr Rev**, v. 23, n. 5, p. 599-622, Oct 2002. ISSN 0163-769X (Print)
0163-769X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12372842> >.

FAA, G. et al. Morphogenesis and molecular mechanisms involved in human kidney development. **J Cell Physiol**, v. 227, n. 3, p. 1257-68, Mar 2012. ISSN 1097-4652 (Electronic)
0021-9541 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21830217> >.

FALOIA, E.; GIACCHETTI, G.; MANTERO, F. Obesity and hypertension. **J Endocrinol Invest**, v. 23, n. 1, p. 54-62, Jan 2000. ISSN 0391-4097 (Print)
0391-4097 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10698053> >.

FANNI, D. et al. "Physiological" renal regenerating medicine in VLBW preterm infants: could a dream come true? **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 25 Suppl 3, p. 41-8, Oct 2012. ISSN 1476-4954 (Electronic)
1476-4954 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23016617> >.

FAO. **El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2015. Cumplimiento de los objetivos internacionales para 2015 en relación con el hambre: balance de los desiguales progresos**: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura 2015.

FINKEL, T. Signal transduction by reactive oxygen species. **J Cell Biol**, v. 194, n. 1, p. 7-15, Jul 11 2011. ISSN 1540-8140 (Electronic)
0021-9525 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21746850> >.

FIOROTTO, M. L. et al. Intake and use of milk nutrients by rat pups suckled in small, medium, or large litters. **Am J Physiol**, v. 260, n. 6 Pt 2, p. R1104-13, Jun 1991. ISSN 0002-9513 (Print)
0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2058738> >.

FLEMMING, N. B.; GALLO, L. A.; FORBES, J. M. Mitochondrial Dysfunction and Signaling in Diabetic Kidney Disease: Oxidative Stress and Beyond. **Semin Nephrol**, v. 38, n. 2, p. 101-110, Mar 2018. ISSN 1558-4488 (Electronic)
0270-9295 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29602393> >.

FORD, E. S.; GILES, W. H.; DIETZ, W. H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. **JAMA**, v. 287, n. 3, p. 356-9, Jan 16 2002. ISSN 0098-7484 (Print)
0098-7484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11790215> >.

FORMAN, H. J.; THOMAS, M. J. Oxidant production and bactericidal activity of phagocytes. **Annu Rev Physiol**, v. 48, p. 669-80, 1986. ISSN 0066-4278 (Print)
0066-4278 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3010830> >.

FORSDAHL, A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? **Br J Prev Soc Med**, v. 31, n. 2, p. 91-5, Jun 1977. ISSN 0007-1242 (Print)
0007-1242 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/884401> >.

FRANKE, K. et al. 'Programming' of orexigenic and anorexigenic hypothalamic neurons in offspring of treated and untreated diabetic mother rats. **Brain Res**, v. 1031, n. 2, p. 276-83, Jan 21 2005. ISSN 0006-8993 (Print)

0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15649453> >.

FRANKEL, S. et al. Birthweight, body-mass index in middle age, and incident coronary heart disease. **Lancet**, v. 348, n. 9040, p. 1478-80, Nov 30 1996. ISSN 0140-6736 (Print) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8942776> >.

FREEMAN, D. M. et al. Differentiation between renal cortex and medulla in the response to hypotension using localized ³¹P magnetic resonance spectroscopy. **Transplantation**, v. 48, n. 2, p. 202-9, Aug 1989. ISSN 0041-1337 (Print) 0041-1337 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2756556> >.

FRIDOVICH, I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters. **J Biol Chem**, v. 272, n. 30, p. 18515-7, Jul 25 1997. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9228011> >.

GIVERTZ, M. M.; SAWYER, D. B.; COLUCCI, W. S. Antioxidants and myocardial contractility: illuminating the "Dark Side" of beta-adrenergic receptor activation? **Circulation**, v. 103, n. 6, p. 782-3, Feb 13 2001. ISSN 1524-4539 (Electronic) 0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11171781> >.

GOODMAN, Z. D. The impact of obesity on liver histology. **Clin Liver Dis**, v. 18, n. 1, p. 33-40, Feb 2014. ISSN 1557-8224 (Electronic) 1089-3261 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24274863> >.

GRAHAMMER, F.; SCHELL, C.; HUBER, T. B. The podocyte slit diaphragm--from a thin grey line to a complex signalling hub. **Nat Rev Nephrol**, v. 9, n. 10, p. 587-98, Oct 2013. ISSN 1759-507X (Electronic) 1759-5061 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23999399> >.

GROBSTEIN, C. Some transmission characteristics of the tubule-inducing influence on mouse metanephrogenic mesenchyme. **Exp Cell Res**, v. 13, n. 3, p. 575-87, Dec 1957. ISSN 0014-4827 (Print) 0014-4827 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13490376> >.

GROBSTEIN, C.; DALTON, A. J. Kidney tubule induction in mouse metanephrogenic mesenchyme without cytoplasmic contact. **J Exp Zool**, v. 135, n. 1, p. 57-73, Jun 1957. ISSN 0022-104X (Print) 0022-104X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13481289> >.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. **Nat Rev Neurosci**, v. 7, n. 5, p. 335-46, May 2006. ISSN 1471-003X (Print) 1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16760914> >.

GUYTON, A. C. Physiologic regulation of arterial pressure. **Am J Cardiol**, v. 8, p. 401-7, Sep 1961. ISSN 0002-9149 (Print) 0002-9149 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13710076> >.

GUYTON, A. C. et al. Arterial pressure regulation. Overriding dominance of the kidneys in long-term regulation and in hypertension. **Am J Med**, v. 52, n. 5, p. 584-94, May 1972. ISSN 0002-9343 (Print)

0002-9343 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4337474> >.

HAHN, P. Effect of litter size on plasma cholesterol and insulin and some liver and adipose tissue enzymes in adult rodents. **J Nutr**, v. 114, n. 7, p. 1231-4, Jul 1984. ISSN 0022-3166 (Print)

0022-3166 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6376732> >.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, n. 7, p. 595-601, Jul 1992. ISSN 0012-186X (Print)

0012-186X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1644236> >.

HALL, J. E.; BRANDS, M. W.; SHEK, E. W. Central role of the kidney and abnormal fluid volume control in hypertension. **J Hum Hypertens**, v. 10, n. 10, p. 633-9, Oct 1996. ISSN 0950-9240 (Print)

0950-9240 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9004086> >.

HALL, M. E. et al. Obesity, hypertension, and chronic kidney disease. **Int J Nephrol Renovasc Dis**, v. 7, p. 75-88, 2014. ISSN 1178-7058 (Print)

1178-7058 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24600241> >.

HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochem Soc Trans**, v. 35, n. Pt 5, p. 1147-50, Nov 2007. ISSN 0300-5127 (Print)

0300-5127 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17956298> >.

_____. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutr Rev**, v. 70, n. 5, p. 257-65, May 2012. ISSN 1753-4887 (Electronic)

0029-6643 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22537212> >.

HANSON, M.; GLUCKMAN, P. Developmental origins of noncommunicable disease: population and public health implications. **Am J Clin Nutr**, v. 94, n. 6 Suppl, p. 1754S-1758S, Dec 2011. ISSN 1938-3207 (Electronic)

0002-9165 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21525196> >.

HAO, X. Q. et al. Prenatal exposure to lipopolysaccharide alters the intrarenal renin-angiotensin system and renal damage in offspring rats. **Hypertens Res**, v. 33, n. 1, p. 76-82, Jan 2010. ISSN 1348-4214 (Electronic)

0916-9636 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19911002> >.

HARALDSSON, B.; NYSTROM, J.; DEEN, W. M. Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria. **Physiol Rev**, v. 88, n. 2, p. 451-87, Apr 2008. ISSN 0031-9333 (Print)

0031-9333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18391170> >.

HARRISON-BERNARD, L. M. The renal renin-angiotensin system. **Adv Physiol Educ**, v. 33, n. 4, p. 270-4, Dec 2009. ISSN 1522-1229 (Electronic)

1043-4046 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19948673> >.

HEILMANN, M. et al. Quantification of glomerular number and size distribution in normal rat kidneys using magnetic resonance imaging. **Nephrol Dial Transplant**, v. 27, n. 1, p. 100-7, Jan 2012. ISSN 1460-2385 (Electronic) 0931-0509 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21642513> >.

HELLER, J. et al. A transient role of the kidney in the maintenance of hypertension. **Kidney Int Suppl**, v. 55, p. S163-5, Jun 1996. ISSN 0098-6577 (Print) 0098-6577 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8743544> >.

HOU, M. et al. Neonatal overfeeding induced by small litter rearing causes altered glucocorticoid metabolism in rats. **PLoS One**, v. 6, n. 11, p. e25726, 2011. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22073140> >.

HOU, X. M.; CHEN, X.; WANG, Y. L. [The role of Pax2 in regulation of kidney development and kidney disease]. **Yi Chuan**, v. 33, n. 9, p. 931-8, Sep 2011. ISSN 0253-9772 (Print) 0253-9772 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21951793> >.

HOY, W. E. et al. A stereological study of glomerular number and volume: preliminary findings in a multiracial study of kidneys at autopsy. **Kidney Int Suppl**, n. 83, p. S31-7, Feb 2003. ISSN 0098-6577 (Print) 0098-6577 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12864872> >.

HUANG, W. J.; ZHANG, X.; CHEN, W. W. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. **Biomed Rep**, v. 4, n. 5, p. 519-522, May 2016. ISSN 2049-9434 (Print) 2049-9434 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27123241> >.

HUGHSON, M. et al. Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. **Kidney Int**, v. 63, n. 6, p. 2113-22, Jun 2003. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12753298> >.

JACOBSON, H. R.; KOKKO, J. P. Intrinsic differences in various segments of the proximal convoluted tubule. **J Clin Invest**, v. 57, n. 4, p. 818-25, Apr 1976. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/947954> >.

JAIN, M. et al. Mitochondrial reactive oxygen species regulate transforming growth factor-beta signaling. **J Biol Chem**, v. 288, n. 2, p. 770-7, Jan 11 2013. ISSN 1083-351X (Electronic) 0021-9258 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23204521> >.

JAMES, R. G. et al. Odd-skipped related 1 is required for development of the metanephric kidney and regulates formation and differentiation of kidney precursor cells. **Development**, v. 133, n. 15, p. 2995-3004, Aug 2006. ISSN 0950-1991 (Print) 0950-1991 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16790474> >.

JORSAL, A. et al. Serum adiponectin predicts all-cause mortality and end stage renal disease in patients with type I diabetes and diabetic nephropathy. **Kidney Int**, v. 74, n. 5, p. 649-54, Sep 2008. ISSN 1523-1755 (Electronic) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18496510> >.

KALAITZIDIS, R.; BAKRIS, G. Are renin-angiotensin-aldosterone system blockers distinguishable based on cardiovascular and renal outcomes in nephropathy? **Postgrad Med**, v. 121, n. 2, p. 77-88, Mar 2009. ISSN 1941-9260 (Electronic) 0032-5481 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19332965> >.

KATTOOR, A. J. et al. Oxidative Stress in Atherosclerosis. **Curr Atheroscler Rep**, v. 19, n. 11, p. 42, Sep 18 2017. ISSN 1534-6242 (Electronic) 1523-3804 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28921056> >.

KERMACK, W. O.; MCKENDRICK, A. G.; MCKINLAY, P. L. Death-rates in Great Britain and Sweden: Expression of Specific Mortality Rates as Products of Two Factors, and some Consequences thereof. **J Hyg (Lond)**, v. 34, n. 4, p. 433-57, Dec 1934. ISSN 0022-1724 (Print) 0022-1724 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20475246> >.

KIRCHHEIM, H. R.; EHMKE, H.; PERSSON, P. B. Role of the kidney in long-term control of blood pressure. **Acta Physiol Pharmacol Bulg**, v. 15, n. 2, p. 3-12, 1989. ISSN 0323-9950 (Print) 0323-9950 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2678894> >.

KITTISKULNAM, P. et al. The magnitude of obesity and metabolic syndrome among diabetic chronic kidney disease population: A nationwide study. **PLoS One**, v. 13, n. 5, p. e0196332, 2018. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29742114> >.

KNEPPER, M.; BURG, M. Organization of nephron function. **Am J Physiol**, v. 244, n. 6, p. F579-89, Jun 1983. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6305206> >.

KOBAYASHI, A. et al. Six2 defines and regulates a multipotent self-renewing nephron progenitor population throughout mammalian kidney development. **Cell Stem Cell**, v. 3, n. 2, p. 169-81, Aug 7 2008. ISSN 1875-9777 (Electronic) 1875-9777 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18682239> >.

KOBAYASHI, M. et al. Catalase deficiency renders remnant kidneys more susceptible to oxidant tissue injury and renal fibrosis in mice. **Kidney Int**, v. 68, n. 3, p. 1018-31, Sep 2005. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16105032> >.

KOSHIMURA, J. et al. Urinary adiponectin excretion is increased in patients with overt diabetic nephropathy. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 316, n. 1, p. 165-9, Mar 26 2004. ISSN 0006-291X (Print) 0006-291X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15003525> >.

KREISBERG, J. I. Insulin requirement for contraction of cultured rat glomerular mesangial cells in response to angiotensin II: possible role for insulin in modulating glomerular hemodynamics. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 79, n. 13, p. 4190-2, Jul 1982. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7051007> >.

KRIACHKOVA, A. A.; SAVEL'EVA, S. A.; KUTYRINA, I. M. [The role of lipid metabolism disorders in kidney disease in metabolic syndrome associated with obesity]. **Ter Arkh**, v. 83, n. 8, p. 54-8, 2011. ISSN 0040-3660 (Print) 0040-3660 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21961334> >.

KRIZ, W. Structural organization of the renal medulla: comparative and functional aspects. **Am J Physiol**, v. 241, n. 1, p. R3-16, Jul 1981. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7018270> >.

KRIZ, W.; BANKIR, L. A standard nomenclature for structures of the kidney. The Renal Commission of the International Union of Physiological Sciences (IUPS). **Kidney Int**, v. 33, n. 1, p. 1-7, Jan 1988. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3352156> >.

KUBODERA, T.; ASAKAWA, M.; ITO, H. [Morphometric studies on the cortex and medulla of frontally sectioned kidneys in the Japanese adult]. **Kaibogaku Zasshi**, v. 68, n. 5, p. 504-12, Oct 1993. ISSN 0022-7722 (Print) 0022-7722 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8279261> >.

KUURE, S.; VUOLTEENAHONEN, R.; VAINIO, S. Kidney morphogenesis: cellular and molecular regulation. **Mech Dev**, v. 92, n. 1, p. 31-45, Mar 15 2000. ISSN 0925-4773 (Print) 0925-4773 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10704886> >.

LATINI, G. et al. Foetal growth of kidneys, liver and spleen in intrauterine growth restriction: "programming" causing "metabolic syndrome" in adult age. **Acta Paediatr**, v. 93, n. 12, p. 1635-9, Dec 2004. ISSN 0803-5253 (Print) 0803-5253 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15841773> >.

LAWLOR, D. A. et al. Early life predictors of childhood intelligence: evidence from the Aberdeen children of the 1950s study. **J Epidemiol Community Health**, v. 59, n. 8, p. 656-63, Aug 2005. ISSN 0143-005X (Print) 0143-005X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16020642> >.

LEON, D. A. et al. Reduced fetal growth rate and increased risk of death from ischaemic heart disease: cohort study of 15 000 Swedish men and women born 1915-29. **BMJ**, v. 317, n. 7153, p. 241-5, Jul 25 1998. ISSN 0959-8138 (Print) 0959-8138 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9677213> >.

LIMA, F. L. S. J. C. B. C. J. C. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **J Bras Patol Med Lab** v. 43, p. 329-337, 2007. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v43n5/a05v43n5.pdf> >.

LITTLE, M. H.; MCMAHON, A. P. Mammalian kidney development: principles, progress, and projections. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v. 4, n. 5, May 1 2012. ISSN 1943-0264 (Electronic) 1943-0264 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22550230> >.

- LOCATELLI, F. et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. **Nephrol Dial Transplant**, v. 18, n. 7, p. 1272-80, Jul 2003. ISSN 0931-0509 (Print)
0931-0509 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12808161> >.
- LOPEZ, M. et al. A possible role of neuropeptide Y, agouti-related protein and leptin receptor isoforms in hypothalamic programming by perinatal feeding in the rat. **Diabetologia**, v. 48, n. 1, p. 140-8, Jan 2005. ISSN 0012-186X (Print)
0012-186X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15616803> >.
- LU, L. et al. Long-term association between dairy consumption and risk of childhood obesity: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **Eur J Clin Nutr**, v. 70, n. 4, p. 414-23, Apr 2016. ISSN 1476-5640 (Electronic)
0954-3007 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26862005> >.
- MARTYN, C. N.; BARKER, D. J.; OSMOND, C. Mothers' pelvic size, fetal growth, and death from stroke and coronary heart disease in men in the UK. **Lancet**, v. 348, n. 9037, p. 1264-8, Nov 9 1996. ISSN 0140-6736 (Print)
0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8909378> >.
- MASCALI, A. et al. Obesity and kidney disease: Beyond the hyperfiltration. **Int J Immunopathol Pharmacol**, v. 29, n. 3, p. 354-63, Sep 2016. ISSN 2058-7384 (Electronic)
0394-6320 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27044633> >.
- MATTEI, J. et al. A symposium and workshop report from the Global Nutrition and Epidemiologic Transition Initiative: nutrition transition and the global burden of type 2 diabetes. **Br J Nutr**, v. 108, n. 7, p. 1325-35, Oct 2012. ISSN 1475-2662 (Electronic)
0007-1145 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22863082> >.
- MBASSA, G.; ELGER, M.; KRIZ, W. The ultrastructural organization of the basement membrane of Bowman's capsule in the rat renal corpuscle. **Cell Tissue Res**, v. 253, n. 1, p. 151-63, Jul 1988. ISSN 0302-766X (Print)
0302-766X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3416336> >.
- MCCANCE, R. A. Food, growth, and time. **Lancet**, v. 2, n. 7257, p. 621-6, Sep 29 1962. ISSN 0140-6736 (Print)
0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13932033> >.
- MCCORMICK, J. A.; ELLISON, D. H. Distal convoluted tubule. **Compr Physiol**, v. 5, n. 1, p. 45-98, Jan 2015. ISSN 2040-4603 (Electronic)
2040-4603 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25589264> >.
- MEISTER, A. Biosynthesis and functions of glutathione, an essential biofactor. **J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)**, v. Spec No, p. 1-6, 1992. ISSN 0301-4800 (Print)
0301-4800 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1297717> >.
- MICHOS, O. et al. Kidney development in the absence of Gdnf and Spry1 requires Fgf10. **PLoS Genet**, v. 6, n. 1, p. e1000809, Jan 15 2010. ISSN 1553-7404 (Electronic)
1553-7390 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20084103> >.

- MIRONOVA, E. et al. Aldosterone-independent regulation of the epithelial Na⁺ channel (ENaC) by vasopressin in adrenalectomized mice. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 109, n. 25, p. 10095-100, Jun 19 2012. ISSN 1091-6490 (Electronic) 0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22665796> >.
- MOREIRA, T. S. et al. Central chemoreceptors and sympathetic vasomotor outflow. **J Physiol**, v. 577, n. Pt 1, p. 369-86, Nov 15 2006. ISSN 0022-3751 (Print) 0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16901945> >.
- MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 26, n. 4, p. 471-83, Jun 2002. ISSN 0149-7634 (Print) 0149-7634 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12204193> >.
- MURASHOV, A. K. et al. Paternal long-term exercise programs offspring for low energy expenditure and increased risk for obesity in mice. **FASEB J**, v. 30, n. 2, p. 775-84, Feb 2016. ISSN 1530-6860 (Electronic) 0892-6638 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26506979> >.
- MURAWSKI, I. J.; MAINA, R. W.; GUPTA, I. R. The relationship between nephron number, kidney size and body weight in two inbred mouse strains. **Organogenesis**, v. 6, n. 3, p. 189-94, Jul-Sep 2010. ISSN 1555-8592 (Electronic) 1547-6278 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21197222> >.
- NAKHOUL, N.; BATUMAN, V. Role of proximal tubules in the pathogenesis of kidney disease. **Contrib Nephrol**, v. 169, p. 37-50, 2011. ISSN 1662-2782 (Electronic) 0302-5144 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21252510> >.
- NATIONAL KIDNEY, F. KDOQI Clinical Practice Guideline for Diabetes and CKD: 2012 Update. **Am J Kidney Dis**, v. 60, n. 5, p. 850-86, Nov 2012. ISSN 1523-6838 (Electronic) 0272-6386 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23067652> >.
- NATT, D. et al. Perinatal Malnutrition Leads to Sexually Dimorphic Behavioral Responses with Associated Epigenetic Changes in the Mouse Brain. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, p. 11082, Sep 11 2017. ISSN 2045-2322 (Electronic) 2045-2322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28894112> >.
- NAVAR, L. G. The kidney in blood pressure regulation and development of hypertension. **Med Clin North Am**, v. 81, n. 5, p. 1165-98, Sep 1997. ISSN 0025-7125 (Print) 0025-7125 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9308604> >.
- NISHINAKAMURA, R.; TAKASATO, M. Essential roles of Sall1 in kidney development. **Kidney Int**, v. 68, n. 5, p. 1948-50, Nov 2005. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16221172> >.
- NYENGAARD, J. R.; BENDTSEN, T. F. Glomerular number and size in relation to age, kidney weight, and body surface in normal man. **Anat Rec**, v. 232, n. 2, p. 194-201, Feb 1992. ISSN 0003-276X (Print) 0003-276X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1546799> >.

OLIVER, J. A. Adult renal stem cells and renal repair. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 13, n. 1, p. 17-22, Jan 2004. ISSN 1062-4821 (Print) 1062-4821 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15090855> >.

PAIXAO, A. D. et al. Regional Brazilian diet-induced low birth weight is correlated with changes in renal hemodynamics and glomerular morphometry in adult age. **Biol Neonate**, v. 80, n. 3, p. 239-46, 2001. ISSN 0006-3126 (Print) 0006-3126 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11585990> >.

PETER D. VIZE, A. S. W. A. J. B. L. B. The Kidney: From Normal Development to Congenital Disease. p. 592, 14 February 2003.

PHILLIPS, C. M. Metabolically healthy obesity: definitions, determinants and clinical implications. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 14, n. 3, p. 219-27, Sep 2013. ISSN 1573-2606 (Electronic) 1389-9155 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23928851> >.

PI-SUNYER, F. X. Medical hazards of obesity. **Ann Intern Med**, v. 119, n. 7 Pt 2, p. 655-60, Oct 1 1993. ISSN 0003-4819 (Print) 0003-4819 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8363192> >.

PLAGEMANN, A. et al. Developmental programming of the hypothalamus: a matter of insulin. A comment on: Horvath, T. L., Bruning, J. C.: Developmental programming of the hypothalamus: a matter of fat. *Nat. Med.* (2006) 12: 52-53. **Neuro Endocrinol Lett**, v. 27, n. 1-2, p. 70-2, Feb-Apr 2006. ISSN 0172-780X (Print) 0172-780X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16648802> >.

POLLAK, M. R. et al. The glomerulus: the sphere of influence. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 9, n. 8, p. 1461-9, Aug 7 2014. ISSN 1555-905X (Electronic) 1555-9041 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24875196> >.

QUIGLEY, R. Developmental changes in renal function. **Curr Opin Pediatr**, v. 24, n. 2, p. 184-90, Apr 2012. ISSN 1531-698X (Electronic) 1040-8703 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22426155> >.

RAJAGOPAL, M.; WALLACE, D. P. Chloride secretion by renal collecting ducts. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 24, n. 5, p. 444-9, Sep 2015. ISSN 1473-6543 (Electronic) 1062-4821 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26125646> >.

RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **N Engl J Med**, v. 295, n. 7, p. 349-53, Aug 12 1976. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/934222> >.

REIDY, K. J.; ROSENBLUM, N. D. Cell and molecular biology of kidney development. **Semin Nephrol**, v. 29, n. 4, p. 321-37, Jul 2009. ISSN 1558-4488 (Electronic) 0270-9295 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19615554> >.

RHEE, S. G. Cell signaling. H₂O₂, a necessary evil for cell signaling. **Science**, v. 312, n. 5782, p. 1882-3, Jun 30 2006. ISSN 1095-9203 (Electronic)

0036-8075 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16809515> >.

ROLLAND-CACHERA, M. F.; AKROUT, M.; PENEAU, S. Nutrient Intakes in Early Life and Risk of Obesity. **Int J Environ Res Public Health**, v. 13, n. 6, Jun 6 2016. ISSN 1660-4601 (Electronic)

1660-4601 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27275827> >.

ROMAIN, A. J.; MARLEAU, J.; BAILLOT, A. Impact of obesity and mood disorders on physical comorbidities, psychological well-being, health behaviours and use of health services. **J Affect Disord**, v. 225, p. 381-388, Jan 1 2018. ISSN 1573-2517 (Electronic) 0165-0327 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28846960> >.

ROOS, K. P. et al. Adenylyl cyclase VI mediates vasopressin-stimulated ENaC activity. **J Am Soc Nephrol**, v. 24, n. 2, p. 218-27, Feb 2013. ISSN 1533-3450 (Electronic) 1046-6673 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23264685> >.

ROY, M. P. Malnutrition and Health Program. **Indian Pediatr**, v. 55, n. 1, p. 75, Jan 15 2018. ISSN 0974-7559 (Electronic)

0019-6061 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29396944> >.

RUDARLI NALCAKAN, G. et al. Acute oxidative stress and antioxidant status responses following an American football match. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 51, n. 3, p. 533-9, Sep 2011. ISSN 0022-4707 (Print)

0022-4707 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21904294> >.

RUGGIERO, C. et al. High-fat diet induces an initial adaptation of mitochondrial bioenergetics in the kidney despite evident oxidative stress and mitochondrial ROS production. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 300, n. 6, p. E1047-58, Jun 2011. ISSN 1522-1555 (Electronic)

0193-1849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21386058> >.

RUILOPE, L. M. et al. Obesity and hypertension in Latin America: Current perspectives. **Hipertens Riesgo Vasc**, v. 35, n. 2, p. 70-76, Apr - Jun 2018. ISSN 1989-4805 (Electronic)

1889-1837 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29361428> >.

SANKHLA, M. et al. Relationship of oxidative stress with obesity and its role in obesity induced metabolic syndrome. **Clin Lab**, v. 58, n. 5-6, p. 385-92, 2012. ISSN 1433-6510 (Print)

1433-6510 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22783566> >.

SARIOLA, H. Interspecies chimeras: an experimental approach for studies on embryonic angiogenesis. **Med Biol**, v. 63, n. 2, p. 43-65, 1985. ISSN 0302-2137 (Print)

0302-2137 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2415784> >.

SAXEN, L.; SARIOLA, H. Early organogenesis of the kidney. **Pediatr Nephrol**, v. 1, n. 3, p. 385-92, Jul 1987. ISSN 0931-041X (Print)

0931-041X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3153305> >.

SCHEDL, A. Renal abnormalities and their developmental origin. **Nat Rev Genet**, v. 8, n. 10, p. 791-802, Oct 2007. ISSN 1471-0064 (Electronic)

1471-0056 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17878895> >.

SCHLONDORFF, D. The glomerular mesangial cell: an expanding role for a specialized pericyte. **FASEB J**, v. 1, n. 4, p. 272-81, Oct 1987. ISSN 0892-6638 (Print) 0892-6638 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3308611> >.

SCHNEIDER, C. R. et al. Associations of neonatal adiponectin and leptin with growth and body composition in African American infants. **Pediatr Obes**, Mar 24 2018. ISSN 2047-6310 (Electronic) 2047-6302 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29573242> >.

SCOTT, J. E. Fetal ureteric reflux. **Br J Urol**, v. 59, n. 4, p. 291-6, Apr 1987. ISSN 0007-1331 (Print) 0007-1331 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3555686> >.

SEQUEIRA LOPEZ, M. L. et al. Renin cells are precursors for multiple cell types that switch to the renin phenotype when homeostasis is threatened. **Dev Cell**, v. 6, n. 5, p. 719-28, May 2004. ISSN 1534-5807 (Print) 1534-5807 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15130496> >.

SHARMA, K. et al. Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. **J Clin Invest**, v. 118, n. 5, p. 1645-56, May 2008. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18431508> >.

SHEEHAN, D. et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. **Biochem J**, v. 360, n. Pt 1, p. 1-16, Nov 15 2001. ISSN 0264-6021 (Print) 0264-6021 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11695986> >.

SHI, G. J. et al. Involvement of growth factors in diabetes mellitus and its complications: A general review. **Biomed Pharmacother**, v. 101, p. 510-527, May 2018. ISSN 1950-6007 (Electronic) 0753-3322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29505922> >.

SHIRATO, I. et al. Cytoskeletal changes in podocytes associated with foot process effacement in Masugi nephritis. **Am J Pathol**, v. 148, n. 4, p. 1283-96, Apr 1996. ISSN 0002-9440 (Print) 0002-9440 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8644869> >.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **Am J Med**, v. 91, n. 3C, p. 31S-38S, Sep 30 1991. ISSN 0002-9343 (Print) 0002-9343 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1928209> >.

SIMOPOULOS, A. P. Characteristics of obesity: an overview. **Ann N Y Acad Sci**, v. 499, p. 4-13, 1987. ISSN 0077-8923 (Print) 0077-8923 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3300491> >.

SOLOMON, S. Developmental changes in nephron number, proximal tubular length and superficial nephron glomerular filtration rate of rats. **J Physiol**, v. 272, n. 3, p. 573-89, Nov 1977. ISSN 0022-3751 (Print)

0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/592203> >.

SPEEDY, D. B.; NOAKES, T. D.; SCHNEIDER, C. Exercise-associated hyponatremia: a review. **Emerg Med (Fremantle)**, v. 13, n. 1, p. 17-27, Mar 2001. ISSN 1035-6851 (Print) 1035-6851 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11476407> >.

STEIN, C. E. et al. Fetal growth and coronary heart disease in south India. **Lancet**, v. 348, n. 9037, p. 1269-73, Nov 9 1996. ISSN 0140-6736 (Print) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8909379> >.

STEVENS, L. A.; LEVEY, A. S. Measurement of kidney function. **Med Clin North Am**, v. 89, n. 3, p. 457-73, May 2005. ISSN 0025-7125 (Print) 0025-7125 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15755462> >.

STORZ, P. Reactive oxygen species in tumor progression. **Front Biosci**, v. 10, p. 1881-96, May 1 2005. ISSN 1093-9946 (Print) 1093-4715 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15769673> >.

SUTHERLAND, M. R. et al. Accelerated maturation and abnormal morphology in the preterm neonatal kidney. **J Am Soc Nephrol**, v. 22, n. 7, p. 1365-74, Jul 2011. ISSN 1533-3450 (Electronic) 1046-6673 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21636639> >.

SUVAKOV, S. et al. Glutathione S-transferase A1, M1, P1 and T1 null or low-activity genotypes are associated with enhanced oxidative damage among haemodialysis patients. **Nephrol Dial Transplant**, v. 28, n. 1, p. 202-12, Jan 2013. ISSN 1460-2385 (Electronic) 0931-0509 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23034843> >.

TAGUCHI, A. et al. Redefining the in vivo origin of metanephric nephron progenitors enables generation of complex kidney structures from pluripotent stem cells. **Cell Stem Cell**, v. 14, n. 1, p. 53-67, Jan 2 2014. ISSN 1875-9777 (Electronic) 1875-9777 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24332837> >.

TEPEL, M. Oxidative stress: does it play a role in the genesis of essential hypertension and hypertension of uraemia? **Nephrol Dial Transplant**, v. 18, n. 8, p. 1439-42, Aug 2003. ISSN 0931-0509 (Print) 0931-0509 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12897077> >.

TORMOS, K. V. et al. Mitochondrial complex III ROS regulate adipocyte differentiation. **Cell Metab**, v. 14, n. 4, p. 537-44, Oct 5 2011. ISSN 1932-7420 (Electronic) 1550-4131 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21982713> >.

TORRENS, C. et al. Folate supplementation during pregnancy improves offspring cardiovascular dysfunction induced by protein restriction. **Hypertension**, v. 47, n. 5, p. 982-7, May 2006. ISSN 1524-4563 (Electronic) 0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16585422> >.

TUFRO-MCREDDIE, A. et al. Angiotensin II regulates nephrogenesis and renal vascular development. **Am J Physiol**, v. 269, n. 1 Pt 2, p. F110-5, Jul 1995. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7631824> >.

TURI, S. et al. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. **Free Radic Biol Med**, v. 22, n. 1-2, p. 161-8, 1997. ISSN 0891-5849 (Print) 0891-5849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8958140> >.

VETTER, M. R.; GIBLEY, C. W., JR. Morphogenesis and histochemistry of the developing mouse kidney. **J Morphol**, v. 120, n. 2, p. 135-55, Oct 1966. ISSN 0362-2525 (Print) 0022-2887 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6008029> >.

VIEIRA-FILHO, L. D. et al. Placental malnutrition changes the regulatory network of renal Na-ATPase in adult rat progeny: Reprogramming by maternal alpha-tocopherol during lactation. **Arch Biochem Biophys**, v. 505, n. 1, p. 91-7, Jan 01 2011. ISSN 1096-0384 (Electronic) 0003-9861 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20887709> >.

VILLAR-MARTINI, V. C. et al. Hypertension and kidney alterations in rat offspring from low protein pregnancies. **J Hypertens Suppl**, v. 27, n. 6, p. S47-51, Aug 2009. ISSN 1747-3667 (Electronic) 0952-1178 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19633452> >.

VINCENT, H. K.; TAYLOR, A. G. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **Int J Obes (Lond)**, v. 30, n. 3, p. 400-18, Mar 2006. ISSN 0307-0565 (Print) 0307-0565 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16302012> >.

WELHAM, S. J.; WADE, A.; WOOLF, A. S. Protein restriction in pregnancy is associated with increased apoptosis of mesenchymal cells at the start of rat metanephrogenesis. **Kidney Int**, v. 61, n. 4, p. 1231-42, Apr 2002. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11918729> >.

WELSH, G. I.; COWARD, R. J. Podocytes, glucose and insulin. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 19, n. 4, p. 379-84, Jul 2010. ISSN 1473-6543 (Electronic) 1062-4821 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20539231> >.

WELSH, G. I.; SALEEM, M. A. Nephron-signature molecule of the glomerular podocyte? **J Pathol**, v. 220, n. 3, p. 328-37, Feb 2010. ISSN 1096-9896 (Electronic) 0022-3417 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19950250> >.

WHALEY-CONNELL, A. T. et al. Oxidative stress and glomerular filtration barrier injury: role of the renin-angiotensin system in the Ren2 transgenic rat. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 291, n. 6, p. F1308-14, Dec 2006. ISSN 1931-857X (Print) 1522-1466 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16788142> >.

WHO, W. H. O. **Health topics Obesity** 2017.

WINGEN, A. M. et al. Randomised multicentre study of a low-protein diet on the progression of chronic renal failure in children. European Study Group of Nutritional Treatment of Chronic Renal Failure in Childhood. **Lancet**, v. 349, n. 9059, p. 1117-23, Apr 19 1997. ISSN 0140-6736 (Print) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9113009> >.

WINICK, M.; ROSSO, P.; BRASEL, J. A. Malnutrition and cellular growth in the brain. **Bibl Nutr Dieta**, n. 17, p. 60-8, 1972. ISSN 0067-8198 (Print)
0067-8198 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5062572> >.

WOLF, G. et al. Leptin stimulates proliferation and TGF-beta expression in renal glomerular endothelial cells: potential role in glomerulosclerosis [seecomments]. **Kidney Int**, v. 56, n. 3, p. 860-72, Sep 1999. ISSN 0085-2538 (Print)
0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10469355> >.

WOODS, L. L.; RASCH, R. Perinatal ANG II programs adult blood pressure, glomerular number, and renal function in rats. **Am J Physiol**, v. 275, n. 5 Pt 2, p. R1593-9, Nov 1998. ISSN 0002-9513 (Print)
0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9791078> >.

WYNN, T. A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. **J Pathol**, v. 214, n. 2, p. 199-210, Jan 2008. ISSN 0022-3417 (Print)
0022-3417 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18161745> >.

XU, P. X. et al. Eya1-deficient mice lack ears and kidneys and show abnormal apoptosis of organ primordia. **Nat Genet**, v. 23, n. 1, p. 113-7, Sep 1999. ISSN 1061-4036 (Print)
1061-4036 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10471511> >.

YANG, H. et al. Retardation of atherosclerosis by overexpression of catalase or both Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in mice lacking apolipoprotein E. **Circ Res**, v. 95, n. 11, p. 1075-81, Nov 26 2004. ISSN 1524-4571 (Electronic)
0009-7330 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15528470> >.

YANISHI, M. et al. Correlation of whole kidney hypertrophy with glomerular over-filtration in live, gender-mismatched renal transplant allografts. **Nephrology (Carlton)**, v. 22, n. 12, p. 1002-1007, Dec 2017. ISSN 1440-1797 (Electronic)
1320-5358 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27576505> >.

YIM, H. E. et al. Postnatal early overnutrition dysregulates the intrarenal renin-angiotensin system and extracellular matrix-linked molecules in juvenile male rats. **J Nutr Biochem**, v. 23, n. 8, p. 937-45, Aug 2012. ISSN 1873-4847 (Electronic)
0955-2863 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21752621> >.

ZHANG, S. L. et al. Angiotensin II stimulates Pax-2 in rat kidney proximal tubular cells: impact on proliferation and apoptosis. **Kidney Int**, v. 66, n. 6, p. 2181-92, Dec 2004. ISSN 0085-2538 (Print)
0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15569307> >.

ZHAO, H. et al. Role of mitochondrial dysfunction in renal fibrosis promoted by hypochlorite-modified albumin in a remnant kidney model and protective effects of antioxidant peptide SS-31. **Eur J Pharmacol**, v. 804, p. 57-67, Jun 5 2017. ISSN 1879-0712 (Electronic)
0014-2999 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28322835> >.

ZHOU, X. et al. Hydrogen peroxide mediates FK506-induced cytotoxicity in renal cells. **Kidney Int**, v. 65, n. 1, p. 139-47, Jan 2004. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14675044> >.

ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8860 / 2126 8351
Fax: (55 81) 2126 8350
www.ocb.ufpe.br

Recife, 9 de outubro de 2014.

Ofício nº 56/14

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

Para: **Prof. Claudia Jacques Lagranha**
Centro Acadêmico de Vitória - CAV
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.017808/2014-51

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "Estudo da programação fetal de doenças metabólicas da vida adulta nos tecidos vitais: Avaliação dos efeitos da supernutrição".

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos parecer favorável aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério; Animal: ratos; Linhagem: Wistar;
Idade: Progenitores adultos e prole após desmame e adulta;
Peso: Após desmame: 30 - 90g; Sexo: machos e fêmeas;
Número total de animais previsto no protocolo: 92.

Atenciosamente,

Prof. Maria Vasconcelos
Vice-Presidente da CEUA-UFPE
SAFE 218826

CCB: Integrar para desenvolver