



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

JOSÉ WINGLINSON DE OLIVEIRA SANTOS

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA DURANTE A
GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO NA
PROLE ADULTA**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2020

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

JOSÉ WINGLINSON DE OLIVEIRA SANTOS

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA DURANTE A
GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO NA
PROLE ADULTA**

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

Orientadora: Mariana Pinheiro Fernandes
Coorientadora: Talitta Ricarly Lopes de Arruda Lima

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2020

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

- S237e Santos, José Winglinson de Oliveira.
Efeito da atividade física voluntária materna durante a gestação e lactação sobre o estresse oxidativo hepático na prole adulta / José Winglinson de Oliveira Santos. - Vitória de Santo Antão, 2020.
45 folhas; Il.
- Orientadora: Mariana Pinheiro Fernandes.
Coorientadora: Talitta Ricarly Lopes de Arruda Lima.
TCC (Graduação em Educação Física) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Educação Física, 2020.
Inclui referências e anexo.
1. Atividade física voluntária. 2. Estresse Oxidativo. I. Fernandes, Mariana Pinheiro (Orientadora). II. Lima, Talitta Ricarly Lopes de Arruda (Coorientadora). III. Título.

796 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE - 092/2020

JOSÉ WINGLINSON DE OLIVEIRA SANTOS

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA MATERNA DURANTE A
GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO NA
PROLE ADULTA**

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

Aprovado em: 06/11/2020.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof^o. Mr. Anderson Apolonio da Silva Pedroza
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^a. Viviane de Oliveira Nogueira Souza
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico à minha vó, Adeilda Venâncio de Oliveira (In memoriam) por ser meu exemplo de pessoa guerreira, batalhadora e honesta. A minha mãe e a minha irmã, Ana e Wesla, por sempre estarem comigo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo livre arbítrio, pois sem ele não conseguiria ter as minhas próprias escolhas e nem conseguiria aprender com meus erros para me tornar uma pessoa melhor, não teria conhecido pessoas importantes que irei citar mais abaixo. Agradeço ao meu exemplo de pessoa e a pessoa mais incrível que tenho em lembrança, minha vó, Adeilda Venâncio, nordestina raiz e batalhadora, sempre acreditou em mim e esteve ao meu lado até nos últimos momentos. Agradeço a minha mãe, Ana Fédora, por ser uma pessoa incrível e por me apoiar em minhas decisões. Agradeço também a minha irmã, por ser uma mulher de coração gigante e me por me apoiar sempre, além de me proporcionar a bênção de ser Tio. Agradeço também a minha namorada, Débora Kathuly, por sempre estar ao meu lado e me apoiar, por toda paciência e amor durante todo esse tempo juntos. Vocês são minha base, meu conforto onde sei que posso voltar e me sentir em casa. Amo todos vocês

Agradeço imensamente a Mariana Pinheiro Fernandes, minha orientadora e exemplo de profissional e pessoa. Primeiramente pela oportunidade de elaborar esse projeto e tantos outros, pela orientação, por acreditar em mim e me apoiar desde o 2º período, por toda paciência e aprendizado durante esses anos, esforço e dedicação. Agradeço também a minha co-orientadora, Talitta Ricarly Lopes de Arruda Lima, por toda orientação durante os últimos anos, pela amizade criada, pela paciência de sempre e pelo conhecimento passado. Vocês são meus exemplos de trabalho e dedicação, de que todo esforço vale a pena.

Agradeço também a toda equipe LABMEX (Claúdia Lagranha, Anderson Predoza, Rudá Feitoza, Cássia Andrade, Ramon Nascimento, Allifer Rosendo, Elenilson Maximino, Gisele Santiago, Wellington de Almeida, Daniele Andrade, Flávia Santos, Letícia Pachêco, Regis Correia e Diorginis Ferreira, que me ajudaram de inúmeras formas, pelos momentos de diversão e aprendizado. Vocês são exemplos de companheirismo e trabalho, proporcionando momentos marcantes na minha vida e carreira profissional.

RESUMO

A atividade física é um importante fator na prevenção de doenças e promove melhoria na qualidade de vida. A literatura tem demonstrado que a atividade física materna pode modular de forma positiva a saúde tanto da mãe quanto de sua prole, aumentando dessa forma a atividade de enzimas metabólicas, melhorando o estado REDOX celular e diminuindo a ação de espécies reativas de oxigênio. Dessa forma, nosso trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da atividade física voluntária materna sobre biomarcadores de estresse oxidativo e sistemas antioxidantes no tecido hepático da prole adulta. Para isso utilizamos ratas da linhagem *Wistar* que foram colocadas em gaiolas de atividade física voluntária e após um período de adaptação foram classificadas em 3 grupos de acordo com o nível de atividade física diário: inativo (I), ativo (A) e muito ativo (MA). Em seguida, as ratas foram colocadas em gaiolas padrão de biotério para acasalarem e após a presença de espermatozoides na cavidade vaginal, as mesmas foram recolocadas individualmente nas gaiolas de atividade física voluntária para composição dos grupos experimentais, até o dia do desmame da prole. Aos 70 dias de vida, ratos machos foram sacrificados e o tecido hepático removido para as avaliações bioquímicas. Para as análises de biomarcadores de estresse oxidativo foram avaliados os níveis de peroxidação lipídica (malondealdeído-MDA) e oxidação proteica (carbonilas). Também foram avaliadas as atividades de enzimas antioxidantes como: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione-S-transferase (GST), além da quantificação do sistema antioxidante não enzimático, através dos níveis de glutathione reduzida (GSH), glutathione oxidada (GSSG) e tióis totais (sulfidrila). Foi verificada uma diminuição nos níveis de MDA no grupo ativo em comparação com o grupo inativo (22%, ** $p < 0,01$), do grupo muito ativo em comparação com o inativo (46,8%, **** $p < 0,0001$) e entre o grupo muito ativo em comparação com o grupo ativo (40,3%, **** $p < 0,0001$), aumento da atividade enzimática de CAT (21,03%, * $p < 0,05$) e GST entre o grupo ativo em comparação com o grupo inativo (34,2%, ** $p < 0,05$), além de aumento dos níveis de GSH entre os grupos ativo em comparação com o grupo inativo (60%, **** $p < 0,0001$) e muito ativo em comparação com o inativo (125,8%, **** $p < 0,0001$). Em relação ao estado REDOX celular foi observado aumento da razão GSH/GSSG entre os grupos ativo em comparação com o grupo inativo (71%, **** $p < 0,0001$) e muito ativo em comparação com o grupo inativo (112%, **** $p < 0,0001$), além de aumento dos níveis de sulfidrila entre o grupo ativo em comparação com o grupo inativo (37%, ** $p < 0,01$). Nossos resultados sugerem que a atividade física voluntária materna, durante a gestação e lactação, promove uma diminuição na peroxidação lipídica e melhora do balanço oxidativo hepático da prole na vida adulta.

Palavras chaves: Atividade física. Estado REDOX. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Physical activity is an important factor to disease prevention and promotes an improvement in quality of life. The literature has shown that maternal physical activity might modulate, positively, the health of both, mother and her offspring, therefore increasing the activity of metabolic enzymes, improving cellular REDOX status and decreasing the effect of reactive oxygen species. Thus, our work aimed to evaluate the effects of maternal voluntary physical activity on oxidative stress biomarkers and antioxidant systems in adult offspring. To do this, we utilized female Wistar rats, that were placed in voluntary physical activity cages and after an adaptation period were classified into 3 groups accordingly to the level of daily physical activity: inactive (I), active (A) and very active (VA). The rats were then placed in biotarium standard cages for mating and after the detection of sperm in the vaginal cavity, they were put back in the individual cages of voluntary physical activity for the composition of experimental groups, until the day of the offspring's weaning. At 70 days of age, male rats were sacrificed and the liver tissue removed for biochemical evaluations. To oxidative stress biomarkers analysis, the lipid peroxidation (malondialdehyde-MDA) and protein oxidation (carbonyls) levels were evaluated. The antioxidant enzymes activities such as, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione- S-transferase (GST) were also evaluated, in addition to the non-enzymatic antioxidant system, through reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG) and total thiols (sulfhydryl) levels. There was verified a decrease on MDA levels on the active group, in comparison with inactive group (22%, $*p=0.0016$), very active and inactive (46.8%, $**p<0.0001$) and very active and active groups (40.3%, $**p<0.0001$), an increase in CAT (21.03%, $*p=0.0185$) and GST enzymatic activity in comparison between active and inactive groups (34.2%, $**p=0.085$), in addition to increased GSH levels in comparison between the active and inactive (60%, $**p<0.0001$) and very active and inactive groups (125.8%, $**p<0.0001$). Regarding the cellular REDOX state, an increase in the GSH/GSSG ratio was observed between the active and inactive (71%, $**p<0.0001$) and very active and inactive groups (112%, $***p<0.0001$), in addition to an increase on sulfhydryl levels of the active group when compared to inactive group (37%, $**p=0.0065$). Our results suggest that voluntary maternal physical activity, during pregnancy and lactation, promotes a decrease on lipid peroxidation and improves the hepatic oxidative balance of the offspring in adulthood.

Keywords: Physical activity. REDOX state. Oxidative stress.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACMS – American College of Sports Medicine

OMS – Organização Mundial da Saúde

ATP - Adenosina trifosfato

EROs – Espécies Reativas de oxigênio

CAT - Catalase

SOD – Superóxido Dismutase

GSH – Glutathione reduzida

GSSG – Glutathione oxidada

GST - Glutathione-S-transferase

GPx – Glutathione peroxidase

PGC-1 α - Co-ativador gama-1 ativado por proliferador de peroxissomo

SIRT3 - Sirtuína 3

OPA1 - Proteína de atrofia óptica 1

NADPH – Dinucleotídeo de nicotinamida adenina fosfato no estado reduzido

NADH - Dinucleotídeo de nicotinamida adenina no estado reduzido

FADH₂ - Dinucleotídeo de flavina adenina no estado reduzido

OH[•] - Radical hidroxil

DNA – Ácido desoxirribonucleico

MDA – Malondialdeído

Fe²⁺ - Ferro

VO₂ máximo – Volume de consumo de oxigênio máximo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Períodos críticos do desenvolvimento	13
2.2 Atividade física materna	14
2.3 Mitocôndrias, sistemas antioxidantes e estresse oxidativo.....	15
3. OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo geral	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
4. METODOLOGIA	19
4.1 Animais	19
4.2 Protocolo de atividade física voluntária.....	19
4.3 Coleta do tecido hepático para posteriores análises.....	19
4.4 Preparo do homogeneizado do tecido hepático para utilização nas técnicas bioquímicas	20
4.5 Dosagem de Proteína.....	20
4.6 Avaliação dos níveis de peroxidação lipídica pela metodologia da substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	20
4.7 Medida dos níveis de oxidação de proteínas (Carbonilas).....	20
4.8 Avaliação da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD).....	21
4.9 Avaliação da atividade enzimática da catalase	21
4.10 Avaliação da atividade enzimática da glutational-S-transferase	22
4.11 Avaliação dos níveis de glutational reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e do estado REDOX celular (razão GSH/GSSG):.....	22
4.12 Avaliação dos níveis de tióis totais	22
4.13 Análise Estatística.....	23

5. RESULTADOS.....	24
5.1 Classificação das mães em: sedentárias, ativas e muito ativas	24
5.2 Classificação e distribuição dos grupos experimentais.....	26
5.3 Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo: peroxidação lipídica (níveis de malondealdeido-mda) e oxidação proteica (níveis de carbonilas)	26
5.4 Avaliação da atividade das enzimas antioxidantes na prole: superóxido dismutase (sod), catalase (cat) e glutational-s-transferase (gst).....	28
5.5 Avaliação do sistema antioxidante não enzimático na prole: níveis de glutational reduzida (gsh), glutational oxidada (gssg), mensuração do estado redox (gsh/gssg) e níveis de thióis totais (sh).....	30
5.6 Avaliação dos níveis de sulfidrilas-sh na prole.....	32
6 DISCUSSÃO	33
7 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS.....	37
ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	45

1. INTRODUÇÃO

O termo “atividade física” é caracterizado por qualquer movimento que demande um gasto energético acima do metabolismo basal (OMS, 2018). Esse termo quando aplicado ao contexto animal, é utilizado para designar uma locomoção que não está relacionada à sobrevivência ou a algum fator externo (FRAGOSO et al, 2017). Já se sabe que a atividade física é um importante mecanismo na prevenção contra obesidade e outras doenças crônicas metabólicas (BRADLEY et al, 2008). Frente a isso, vários estudos tem demonstrado que a pratica de atividade física pode promover melhora no estilo de vida e diminuição dos índices de comorbidades associadas ao sedentarismo e obesidade, como diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (CAPODAGLIO, 2018; LESZCZYNSKI et al, 2019; VONA et al, 2019).

A atividade física também está associada com a prevenção de doenças metabólicas e pode aumentar a resiliência e melhorar a atividade dos sistemas enzimáticos, como por exemplo, a melhoria da funcionalidade de células hepáticas (YAMAMOTO et al, 2003). Um estilo de vida materno ativo induz adaptações metabólicas e atuam como reguladores crônicos e agudos da oferta e distribuição de energia (ROSA et al, 2011). Além disso, já se sabe que o ambiente pré-natal influencia o desenvolvimento fetal e pode implicar na saúde da prole na vida adulta (GLUCKMAN et al, 2008; VAN DEUTEKOM et al, 2013). Desta forma, estudos sugerem que a prática de atividade física durante o período gestacional influencia na diminuição da frequência cardíaca e menor peso ao nascer da prole, que são indicadores de melhora na programação fetal (HOPKINS et al, 2011; RAMÍREZ-VELEZ et al, 2011).

Desta maneira, a prática regular de atividade física consegue modular grande parte dos efeitos negativos associados a doenças, como por exemplo, a regulação de vias anti-inflamatórias e antioxidantes (MOHAMMADI, 2013). O desequilíbrio entre os sistemas antioxidantes e agentes oxidantes pode elevar os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que é comumente observado nas doenças crônicas. Exercícios extenuantes também alteram esse equilíbrio, elevando os níveis de EROs (GEORGESCU et al., 2017). Porém, em modelo animal, a atividade física voluntária não causa esses efeitos adversos em demasia, uma vez que, pelo fato

dessa prática ser totalmente voluntária, o limiar fisiológico é determinado pelo animal (MOHAMMADI et al., 2013)

A relação da atividade física como modulador da atividade de enzimas do sistema antioxidante está ficando cada vez mais clara na literatura (BRINKMANN, 2013). Estudos recentes já mostram que a prática de exercício físico moderado aumentou os níveis de enzimas antioxidantes, como catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), (STIES et al., 2018). Em função disto, os níveis de peroxidação lipídica foram diminuídos significativamente, assim como os produtos liberados pela lipoperoxidação, diminuindo danos celulares a vários tecidos, como o fígado (STIES et al., 2018).

Apesar de vários estudos mostrarem os efeitos benéficos da atividade física na redução de estresse oxidativo, pouco se conhece sobre a influência da atividade física voluntária materna, durante períodos críticos do desenvolvimento, sobre o balanço oxidativo hepático da prole adulta.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Períodos críticos do desenvolvimento

O ambiente intrauterino é um importante indicador de saúde tanto da mãe quanto da sua prole. Os períodos iniciais da vida, como a gestação e lactação, são considerados períodos críticos do desenvolvimento devido a rápida proliferação e divisão celular, além de ser um período susceptível as alterações ambientais que podem afetar o desenvolvimento de mecanismos reguladores metabólicos (GLUKMAN; HANSON, 2005).

Na literatura estas mudanças ganham o termo de “plasticidade fenotípica”, que se refere à capacidade do fenótipo em adaptar-se diante de respostas ambientais sofridas durante períodos críticos do desenvolvimento e suas implicações posteriormente na fase adulta (GLUCKMAN et al., 2005). Estudos recentes já têm demonstrado que alterações sofridas durante o período materno afetam diretamente a saúde da prole e podem ser determinantes para a descendência em relação a predisposição a doenças (SEGOVIA et al., 2014; FRAGOSO et al., 2020).

Essas alterações podem explicar alguns fenômenos moleculares sofridos durante o período perinatal em decorrência da interação com o ambiente e suas repercussões no fenótipo. Alheiros-Lira (2015) relata em seu estudo que em animais da linhagem *Wistar* quando ofertada uma dieta hipocalórica ou hipoprotéica pode haver uma alteração na linhagem do crescimento, atraso nos reflexos motores e distúrbios no comportamento alimentar (ALHEIROS-LIRA et al., 2015).

Associado a isso, um estilo de vida saudável com equilíbrio entre a ingestão de calorias e o gasto calórico possui vários benefícios na saúde materna, como a redução do ganho de peso e melhora do metabolismo da glicose (CARTER et al., 2012; FERRARI et al., 2018). Além disso, quando associadas uma nutrição inadequada com uma baixa atividade física durante a gestação e lactação, podem induzir modulações fenotípicas a sua prole que por sua vez fica mais susceptível ao aparecimento de doenças cardiovasculares, hipertensão e síndrome metabólica (DOLIN, 2018; VAN ELTEN et al., 2019).

2.2 Atividade física materna

De acordo com a ACMS (American College of Sports Medicine) a terminologia atividade física é definida como qualquer movimento corporal produzido pelo músculo esquelético que demande um aumento do gasto calórico sobre o gasto energético em repouso. Em termos numéricos, a recomendação necessária é de 30 minutos por dia ou 150 minutos por semana para diminuir os números de comorbidades relacionadas ao sedentarismo e a obesidade, como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão, doenças cardiovasculares e metabólicas (OMS, 2018; LESZCZYNSKI et al., 2019; VONA et al., 2019).

Por outro lado, está cada vez mais claro os efeitos positivos da atividade física materna tanto para mãe quanto para sua descendência (LEANDRO et al., 2012; SANTANA MUNIZ et al., 2014). Estudos experimentais já vem demonstrando que a prática de atividade física ou exercício físico durante o período gestacional, associado com o equilíbrio de macronutrientes na dieta, promovem uma melhoria do metabolismo da prole e diminuição da quantidade de tecido adiposo, estimulando o estado homeostático do organismo, além da dinâmica e biogênese mitocondrial (VEJA et al, 2015; KASCH et al, 2017).

Santos-Alves (2015) em seu estudo analisando a atividade física materna em ratos submetidos a atividade física voluntária por 12 semanas, demonstrou uma maior expressão de genes envolvidos na biogênese mitocondrial como o PGC-1 α e o SIRT3, e também como um promotor de inúmeros processos metabólicos mitocondriais relacionados à regulação da dinâmica mitocondrial pelo marcador OPA1.

Além disso, a prática de atividade física de intensidade moderada promove o aumento da atividade de enzimas antioxidantes, contribuindo também para a diminuição de danos celulares a vários tecidos associados a lipoperoxidação. Ainda nesse sentido, estudos demonstraram que o exercício físico aeróbio com intensidade moderada promove a melhora do sistema de defesa antioxidante, diminuição dos níveis de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (LIU, 2018; STIES et al., 2018; KOZAKIEWICZ, 2019).

2.3 Mitocôndrias, sistemas antioxidantes e estresse oxidativo

As mitocôndrias são organelas que estão presentes em praticamente todas as células eucarióticas e possuem a importante funcionalidade de converter a energia de óxido-redução em energia química na forma de ATP (NELSON; COX, 2014). Na membrana interna da mitocôndria encontra-se a cadeia transportadora de elétrons, responsável por transferir os elétrons reduzidos (NADH e FADH₂) provenientes do Ciclo de Krebs e β -oxidação e transferi-los ao oxigênio molecular liberando H₂O (NELSON; COX, 2014; NOLFI-DONEGAN et al., 2020).

No entanto, durante a transferência de elétrons pelos complexos I e III, uma pequena porcentagem do oxigênio molecular pode ser gradualmente reduzido e convertido a radical ânion superóxido e a partir dele, outras espécies reativas podem ser formadas, podendo ser espécies reativas ao oxigênio, como o radical hidroxila (OH⁻) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ou nitrogênio, capazes de causar modificações no DNA, danificar proteínas e lipídios (BOVERIS; OSHINO; CHANCE, 1973; FERREIRA et al., 2016; CHUNG et al., 2017; ZHAO et al., 2019).

A produção de EROs pelo metabolismo aeróbio é inevitável e essencial, uma vez que essas moléculas são fundamentais, atuando por exemplo em processos de crescimento e diferenciação celular, quando em concentrações fisiológicas, mantidas pelos sistemas de defesas antioxidantes (SHARMA et al., 2012). Em contrapartida, quando a produção de agentes pró-oxidantes está em excesso, sobrepondo-se a ação dos sistemas antioxidantes, essas moléculas são extremamente prejudiciais ao organismo pois podem ocasionar danos ao atacar membranas e tecidos, podendo desencadear patologias e morte celular, associadas a um quadro de estresse oxidativo (CRUZAT; TIRAPEGUI, 2017).

Em situações de estresse oxidativo no organismo são formados biomarcadores celulares que são indicadores mensuráveis para refletir os danos moleculares e/ou celulares sofridos, como por exemplo, a oxidação de proteínas e peroxidação lipídica (HALLIWELL, 2012; GHOSH et al., 2018). Nesse sentido, as proteínas podem ser modificadas através da nitrosilação e carbonilação pela formação de ligações dissulfeto e glutathionização ou pela quebra de produtos da peroxidação de ácidos graxos (YAMAUCHI et al., 2008). Desse modo, proteínas carboniladas são utilizadas como marcadores de oxidação proteica em tecidos com alto grau de estresse oxidativo (PAGANO et al., 1998; VALKO et al., 2007).

A peroxidação lipídica acontece quando as espécies reativas de oxigênio reagem com a membrana plasmática de ácidos graxos, principalmente os poliinsaturados, acarretando na alteração estrutural e fluidez da membrana (GHOSH et al., 2018). O malondealdeído (MDA) é um produto secundário da lipoperoxidação utilizado como biomarcador de estresse oxidativo em vários estudos (KADIISKA et al., 2005; VALKO, 2007; WANG et al., 2019).

Em contrapartida, nosso organismo é dotado de sistemas de defesas antioxidantes em resposta aos agentes oxidantes, compostos pelos sistemas de defesas antioxidantes enzimático e não enzimático, que desempenham papel fundamental na conversão de espécies reativas de oxigênio em moléculas menos ofensivas (YOSHIKAWA; NAITO, 2002; HALLIWELL, 2012).

Dentre as principais enzimas que compõe o sistema de defesa antioxidante enzimático, destaca-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e glutathione-S-transferase (GST). A superóxido dismutase é encontrada vários tecidos e se apresenta de duas principais formas, a Cu/ZnSOD localizada no citosol e a MnSOD localizada na matriz mitocondrial. Além disso, é responsável pela reação de dismutação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio e água, sendo dessa forma uma importante enzima do nosso organismo frente a ação do O_2^- (HUBER, 2008; LIMA et al., 2017; YORK-DURAN et al., 2019).

Assim como a SOD, a enzima CAT é encontrada em vários tecidos e tem como substrato o peróxido de hidrogênio que é um subproduto da reação de dismutação do O_2^- . Essa enzima catalisa a reação do peróxido de hidrogênio a água e oxigênio, diminuindo possíveis danos causados por essa molécula. Além disso, outra enzima que atua de forma similar a CAT é a glutathione peroxidase, ambas atuando para neutralizar o peróxido de hidrogênio a fim de diminuir sua ação e combatendo possíveis danos oxidativos (AEBI, 1984; RUSZKIEWICZ; ALBRECHT, 2015; STAERCK et al., 2017).

A GST possui um papel fundamental de detoxificação intracelular de compostos endo e xenobióticos, sendo composta em sua maioria por enzimas citosólicas capazes de regular o estresse oxidativos através da remoção de metabólitos celulares e reparo de macromoléculas oxidadas por EROs (CHELVANAYAGAM et al., 2001; HALL et al., 2014;).

Em relação ao sistema de defesa antioxidantes não enzimático, destacam-se a glutathione reduzida (GSH) e a glutathione oxidada (GSSG). A GSH é o thiol mais

abundante encontrado no nosso organismo e é um tripeptídeo sintetizado no citosol por dois trifosfato de adenosina, por meio de uma reação enzimática (MEISTER; ANDERSON; HWANG 1986; OESTREICHER; MORGAN 2019). A GSH não só participa da estabilização de espécies reativas através da doação de prótons H^+ derivados de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato no estado reduzido (NADPH), em reação catalisada pela glutathione redutase, como também da detoxificação de xenobióticos prejudiciais ao organismo que são produtos da lipoperoxidação, além de fornecer substratos para a GPx e havendo a conversão em GSSG (SIES, 1999; VASCONCELOS et al., 2007; CRUZAT; TIRAPEGUI, 2017; MARI et al., 2020).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da atividade física voluntária materna, durante a gestação e lactação, sobre biomarcadores de estresse oxidativo e sistemas antioxidantes hepáticos da prole adulta.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos da atividade física voluntária materna na prole, durante a fase de adulto jovem, sobre:

- Biomarcadores de estresse oxidativo, níveis de malondealdeído-MDA (peroxidação lipídica) e carbonilas (oxidação proteica);
- Atividade do sistema antioxidante enzimático, das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione-S-transferase (GST);
- Sistema antioxidante não enzimático, através dos níveis de glutathione reduzida (GSH), glutathione oxidada (GSSG) e níveis de tióis totais (SH).

4. METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizadas 14 ratas albinas da linhagem *Wistar* (peso corporal 220-260g, idade entre 85-95 dias) provenientes da colônia do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação, em condições padronizadas e livre acesso à água e alimentação. O manejo e os cuidados para com os animais seguiram as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animal (CEUA) do Centro de Biociências da UFPE (Processo: 23076.017125/2017-47) (ANEXO I).

4.2 Protocolo de atividade física voluntária

A gaiola de atividade física voluntária (GAFV) teve em sua extremidade um cicloergômetro com um sistema de monitoramento por sensor (ciclocomputador Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan). A atividade física das ratas foi avaliada pela movimentação do cicloergômetro, sendo quantificado diariamente através dos sensores que permite o registro das seguintes grandezas físicas: Distância percorrida (km), tempo de atividade (min) e estimativa do gasto calórico (kcal) (MUNIZ et al., 2013). As ratas nulíparas (n=14) foram colocadas individualmente nas GAFV por um período de adaptação e receberam durante esse período dieta padrão de biotério (Labina®). Após esse período, as ratas foram classificadas em três grupos de acordo com o nível de atividade física diário: Inativo (I), Ativo (A) e Muito Ativo (MA). As ratas foram colocadas em gaiola padrão de biotério feita de polipropileno (33x40x17cm) para o acasalamento e após a identificação da presença de espermatozoides na cavidade vaginal (MARCONDES et al., 2002), as ratas foram recolocadas individualmente nas GAFV para composição dos grupos experimentais até o dia do desmame.

4.3 Coleta do tecido hepático para posteriores análises

Todos os animais foram sacrificados através do uso de guilhotina e submetidos à cirurgia para a remoção do tecido hepático, aos 70 dias de vida.

4.4 Preparo do homogeneizado do tecido hepático para utilização nas técnicas bioquímicas

O tecido hepático foi homogeneizado em tampão de extração (Tris base 100 mM, pH 7,4; EDTA 1 mM; ortovanadato de sódio 1 mM; PMSF 2 mM). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 1180g, a 4° C, por 10 min e os sobrenadantes submetidos à quantificação proteica.

4.5 Dosagem de Proteína

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

4.6 Avaliação dos níveis de peroxidação lipídica pela metodologia da substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Para a dosagem de TBARS foi utilizada a técnica colorimétrica de BUEGE e AUST (BUEGE; AUST, 1978), sendo uma técnica muito utilizada para avaliar a lipoperoxidação (LPO), pois o ácido tiobarbitúrico reage com os produtos da LPO, entre eles o malondialdeído e outros aldeídos. Foi adicionada uma alíquota do homogeneizado (300 µg proteína) ao ácido tricloroacético (TCA) a 30%, em seguida, o material foi centrifugado a 1180g por 10 min, o sobrenadante retirado e adicionado ao ácido tiobarbitúrico a 0,73% que reage com os produtos da lipoperoxidação formando um composto de coloração rosada. A mistura foi incubada por 15 min a 100°C e em seguida resfriada e utilizada para a leitura da absorbância a 535 nm em espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/VISIBLE), em cubetas de quartzo. Os resultados foram expressos em mM/mg de proteína.

4.7 Medida dos níveis de oxidação de proteínas (Carbonilas)

A avaliação da oxidação de proteínas foi feita através da reação com o composto 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) como descrito por ZANATTA (ZANATTA et al., 2013). As proteínas foram precipitadas em TCA a 30% seguido de

centrifugação a 1180g por 15 min. O pellet foi ressuspenso e adicionado DNPH 10mM dissolvido em HCl 2,5 N e incubado em local livre de luz a temperatura ambiente, durante uma hora. Posteriormente, as proteínas precipitadas em adição ao TCA 20% foram centrifugadas e passaram por uma série de lavagens com tampão contendo acetato de etila e etanol, até o precipitado ser ressuspenso em cloridrato de guanidina e levado ao espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/ VISIBLE) para leitura em um comprimento de onda de 370 nm, a 37°C. Os resultados foram expressos em mM/mg de proteína.

4.8 Avaliação da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi feita de acordo com MISRA e FRIDOVICH (MISRA e FRIDOVICH, 1972). Homogenato de fígado (80 µg de proteína) foi incubado no tampão carbonato de sódio (0,05 %, pH 10,2, 0,1 mM de EDTA) em banho-maria a 37°C, antes da avaliação da atividade enzimática. A reação teve início pela adição de 20 µM de epinefrina (150 mM), em ácido acético (0,05 %). A absorbância foi lida a 480nm por 3 min em espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/VISIBLE). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de proteína requerida para inibir a auto-oxidação de 1µmol de epinefrina por minuto.

4.9 Avaliação da atividade enzimática da catalase

A atividade da catalase foi monitorada de acordo com AEBI. O princípio do ensaio é baseado na determinação da constante k de decomposição de H₂O₂, que nas nossas condições de temperatura e pH foi definido como $4,6 \times 10^7$. Assim, 0,3M de H₂O₂ foi adicionado a amostra (80 µg de proteína), seguido de adição do tampão fosfato 50mM, pH 7,0 a 20°C. A absorção de decaimento foi monitorizada por 4min a 240nm em espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/VISIBLE). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína (AEBI, 1984). Uma unidade de catalase foi definida como quantidade de proteína requerida para converter 1µmol de H₂O₂ em H₂O por minuto.

4.10 Avaliação da atividade enzimática da glutathiona-S-transferase

A atividade da glutathiona-S-transferase é diretamente proporcional a taxa de formação do composto DNP-SG (dinitro fenil S glutathiona), podendo desta forma ser medida através do monitoramento da taxa de formação do composto. Em uma cubeta de quartzo de 1 mL foi adicionada a amostra (80µg de proteína) ao tampão fosfato (0,1M) e EDTA (1mM), GSH (1mM) e CDNB (1mM). A absorbância (340nm) foi registrada por um período de aproximadamente 3 min com controle da temperatura (30°C), em espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/VISIBLE). Os resultados foram expressos em U/mg proteína. Uma unidade de atividade enzimática da GST foi definida como a quantidade necessária para catalisar a formação de quanto 1mmol do composto DNP-SG por minuto (HABIG; JAKOBY, 1974).

4.11 Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e do estado REDOX celular (razão GSH/GSSG):

Para quantificação dos níveis de GSH, em tampão fosfato 0,1M contendo 5mM de EDTA (pH 8,0) foram adicionados 100 µg do homogenato do fígado e o fluorescente ortoftaldeído (1µM), e então incubados a temperatura ambiente, por 15 minutos e lido em espectrofluorímetro modelo FLUOstar Omega (BMG Labtech, USA), utilizando os comprimentos de onda de 350nm de excitação e 420nm de emissão. Para determinar os níveis de GSSG, a amostra foi incubada com 0,04M de N-etilmaleimida por 30 minutos, seguido da adição de tampão NaOH a 0,1M. O estado REDOX foi determinado pela razão GSH/GSSG (HISSIN & HILF, 1976). Resultados expressos em nmol/mg de proteína.

4.12 Avaliação dos níveis de tióis totais

O conteúdo de sulfidrilas (SH) foi determinado a partir da reação com o composto DTNB (5,5'-dithiobis (2-acido nitro benzoico) (ELLMAN, 1959). Uma alíquota do homogenato (200 µg de proteína) foi incubada no escuro após a adição de DTNB 10mM e o volume final de 1 mL completado com tampão de extração, pH 7,4 e realizada a leitura a 30°C, a 412nm em espectrofotômetro (LIBRA S12 UV/VISIBLE). Os resultados foram expressos em M/mg de proteína.

4.13 Análise Estatística

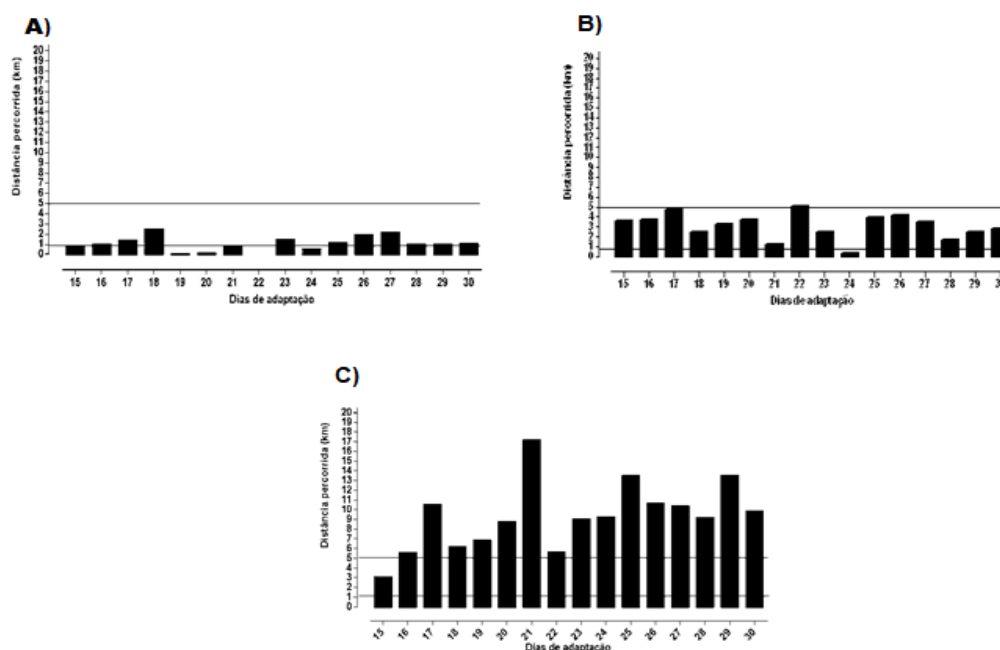
Os dados foram analisados estatisticamente através do software GraphPad Prism 5® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Inicialmente foi realizado o teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov*. Para dados paramétricos, para comparação entre os grupos foi utilizado o teste ANOVA *One-way*, tendo como fator a atividade física. Para o *post-hoc* test foi utilizado o teste de *Bonferroni*. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

5. RESULTADOS

5.1 Classificação das mães em: sedentárias, ativas e muito ativas

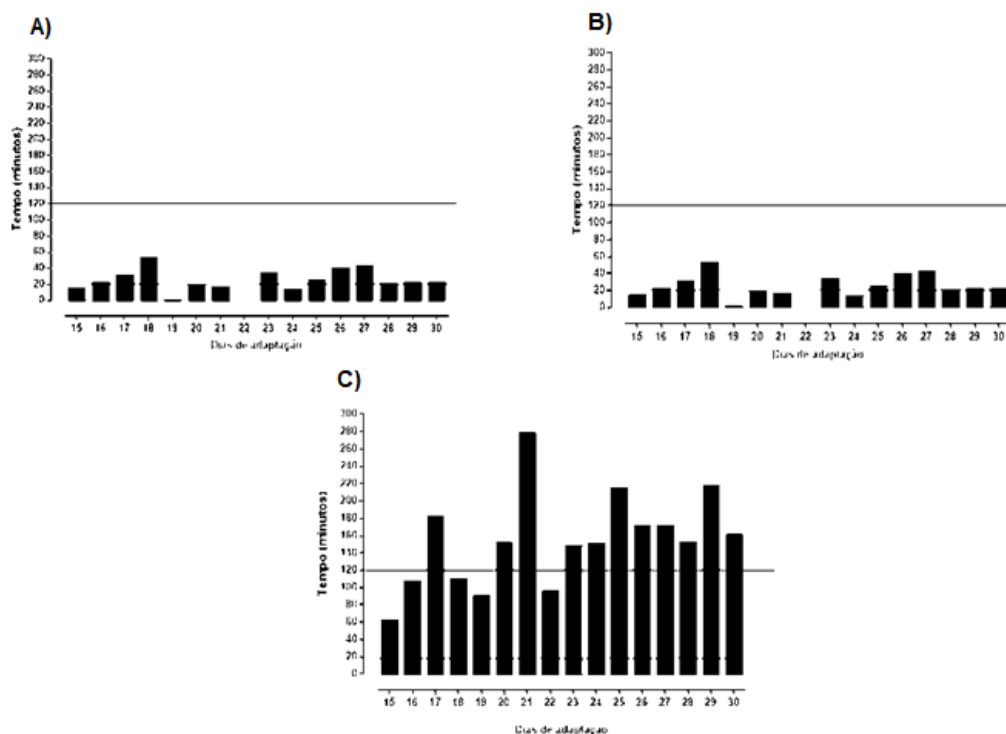
Para a classificação quanto ao nível de atividade física diária das mães em sedentárias, ativas e muito ativas, foram observados do decimo quinto dia ao trigésimo dia de adaptação, a distância percorrida por dia (Figura 1), o tempo de atividade física diária (Figura 2) e a estimativa de gasto calórico (Figura 3) com base em MUNIZ e colaboradores (2013). As mães classificadas como sedentárias foram as que percorreram < 1.0 (km.dia⁻¹) (Figura 1A), quanto ao tempo de atividade física diária praticaram < 20 (min.dia⁻¹) (Figura 2A) e tiveram gasto calórico (kcal.dia⁻¹) < 10.0 (Figura 3A). As mães classificadas como ativas foram as que percorreram $> 1.0 \leq 5.0$ (km.dia⁻¹) (Figura 1B), quanto ao tempo de atividade física diária praticaram $> 20 \leq 120.0$ (min.dia⁻¹) (Figura 2B) e tiveram os gastos calóricos diário de $> 10.0 \leq 40.0$ (Figura 3C). As mães classificadas como muito ativas foram as que percorreram > 5.0 (km.dia⁻¹) (Figura 1C), quanto ao tempo de atividade física diária praticaram > 120.0 (min.dia⁻¹) (Figura 2C) e tiveram gasto calórico (kcal.dia⁻¹) > 40.0 (Figura 3C).

Figura 1 - Classificação das mães em (A) Sedentária (B) Ativa e (C) Muito Ativa, com base dos dados expressas em quilômetros (km) a partir do décimo quinto dia até o trigésimo dia de adaptação.



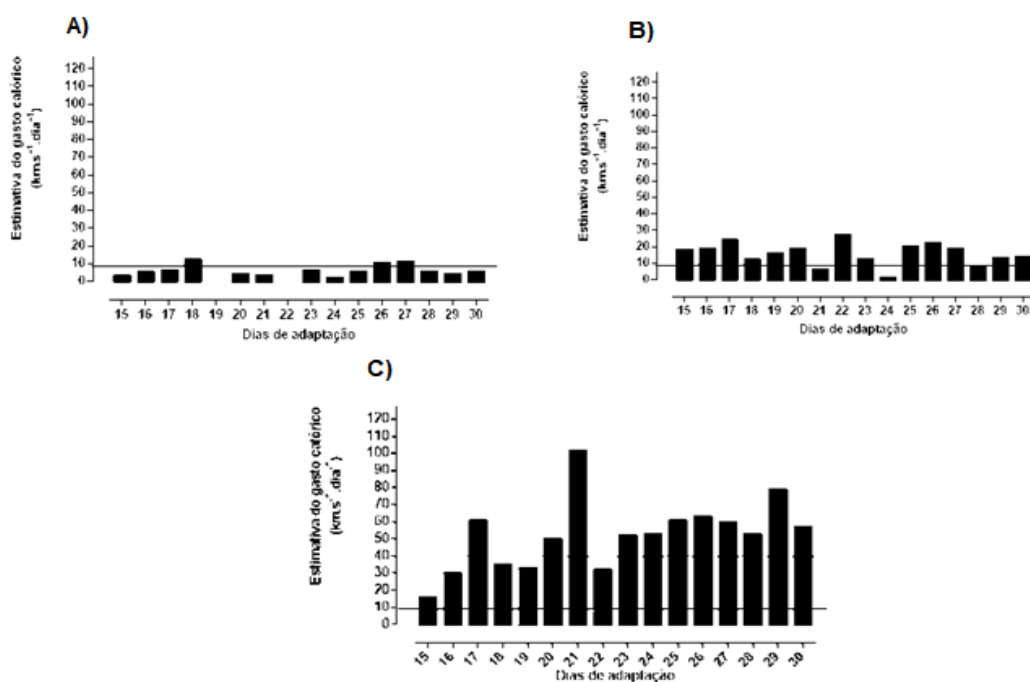
Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020.

Figura 2 - Classificação das mães em (A) Sedentária (B) Ativa e (C) Muito Ativa, com base nos dados referentes ao tempo (min) a partir do décimo quinto dia até o trigésimo dia de adaptação.



Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

Figura 3 - Classificação das mães em (A) Sedentária (B) Ativa e (C) Muito Ativa, com base nos dados referentes ao gasto calórico diário ($\text{km.s}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) a partir do décimo quinto dia até o trigésimo dia de adaptação.



Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

5.2 Classificação e distribuição dos grupos experimentais

Os grupos experimentais foram divididos em função do nível de atividade física voluntária diária de acordo com distância percorrida, gasto calórico e tempo percorrido, conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1 - Classificação dos grupos experimentais de acordo com a atividade física diária (distância percorrida, gasto calórico e tempo percorrido) no ciclo ergômetro.

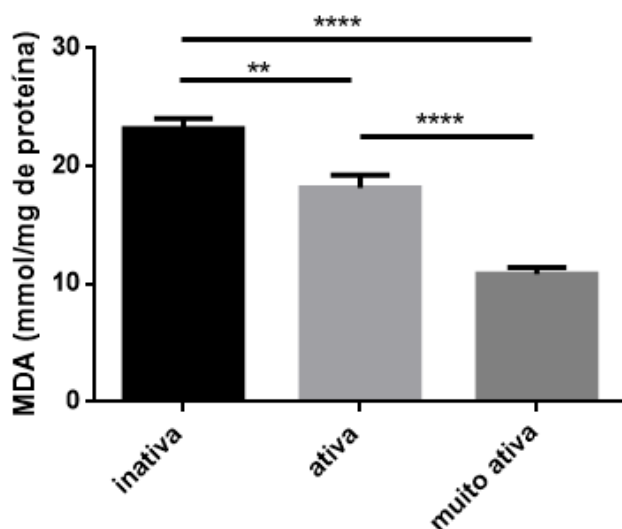
Grupos experimentais	N	Distância percorrida (km.dia⁻¹)	Gasto calórico (kcal.dia⁻¹)	Tempo de atividade (min.dia⁻¹)
Sedentário	8	< 1.0	< 10.0	< 20.0
Ativo	8	> 1.0 ≤ 5.0	> 10.0 ≤ 40.0	> 20 ≤ 120.0
Muito ativo	8	> 5	> 40.0	> 120.0

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

5.3 Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo: peroxidação lipídica (níveis de malondealdeído-mda) e oxidação proteica (níveis de carbonilas)

O MDA é um biomarcador de estresse oxidativo. Ao avaliarmos os níveis de MDA, nossos resultados mostraram que a atividade física voluntária materna diminuiu os níveis de MDA na prole quando comparados os grupos da prole ativa com inativa (22%, $**p=0,0016$), muito ativa com inativa (46,8%, $****p<0,0001$) e muito ativa com ativa (40,3%, $****p<0,0001$) (Figura 4), nossos resultados mostraram que a atividade física voluntária materna diminuiu os níveis de MDA na prole. Em relação aos níveis de carbonilas, nossos resultados não mostraram diferença significativa entre os grupos (Figura 5).

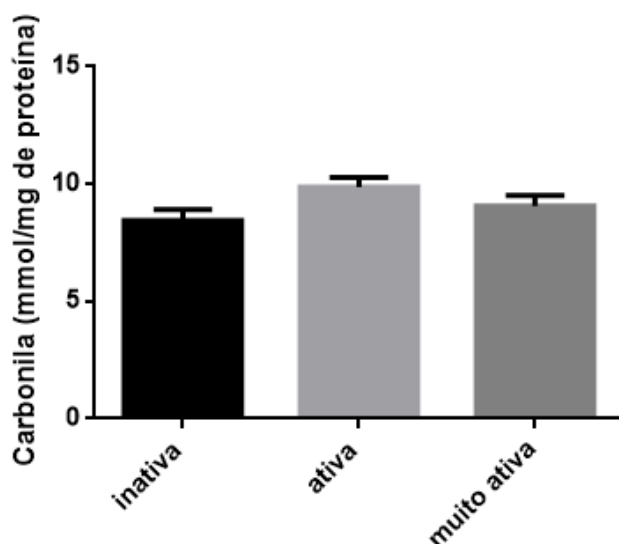
Figura 4 - Avaliação dos níveis de peroxidação lipídica pela metodologia da substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico



Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa ($23,176 \pm 1,689$ mmol/mg de proteína, $n=7$), ativa ($18,172 \pm 2,451$ mmol/mg de proteína, $n=7$) e muito ativa ($10,852 \pm 1,481$ mmol/mg de proteína, $n=8$). ** $p < 0,016$ **** $p < 0,0001$.

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

Figura 5 - Avaliação dos níveis de oxidação de proteínas (Carbonilas)



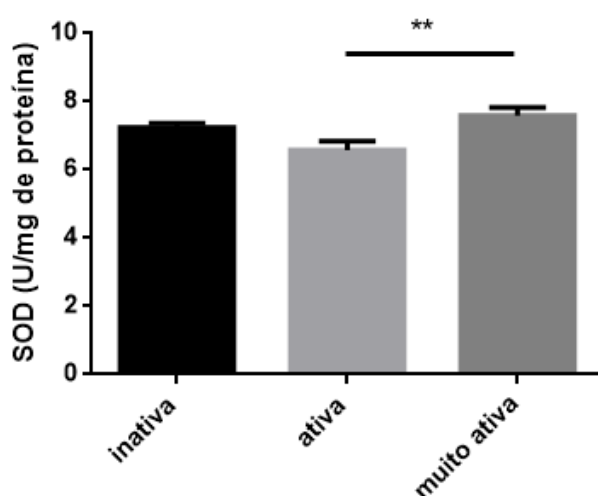
Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa ($8,438 \pm 1,071$ mmol/mg de proteína, $n=6$), ativa ($9,870 \pm 0,951$ mmol/mg de proteína, $n=7$) muito ativa ($9,071 \pm 1,065$ mmol/mg de proteína, $n=7$).

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

5.4 Avaliação da atividade das enzimas antioxidantes na prole: superóxido dismutase (sod), catalase (cat) e glutathione-s-transferase (gst)

A superóxido dimutase é uma enzima que atua na redução da molécula de ânion superóxido a peróxido de hidrogênio. A avaliação da atividade enzimática da SOD mostrou que a prole de mães muito ativa comparado com o grupo de mães ativas estava aumentada (15,4%, $**p=0,0077$) (Figura 6).

Figura 6 - Avaliação da atividade enzimática da Superóxido Dismutase (SOD)

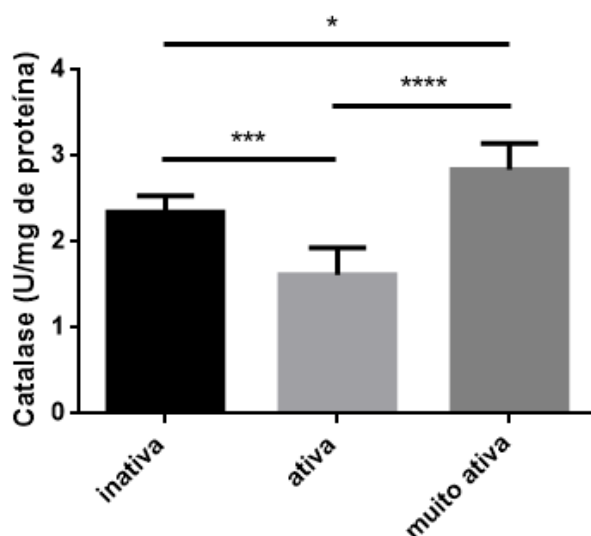


Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa ($7,246 \pm 0,334$ U/mg de proteína, $n=8$), ativa ($6,583 \pm 0,638$ U/mg de proteína, $n=8$) e muito ativa ($7,597 \pm 0,614$ U/mg de proteína, $n=8$). $**p=0,0077$

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

A reação que reduz o peróxido de hidrogênio a água e oxigênio é realizada pela enzima catalase. A maior atividade da catalase nos nossos resultados foi observada nos animais provenientes de mães muito ativas em comparação com o grupo inativo (21%, $*p=0,0185$), entre os grupos de mães muito ativas e ativas (75%, $****p<0,0001$) e diminuição entre o grupo de mães ativas e inativas (31%, $***p=0,0006$) (Figura 7).

Figura 7 - Avaliação da atividade enzimática da Catalase (CAT)

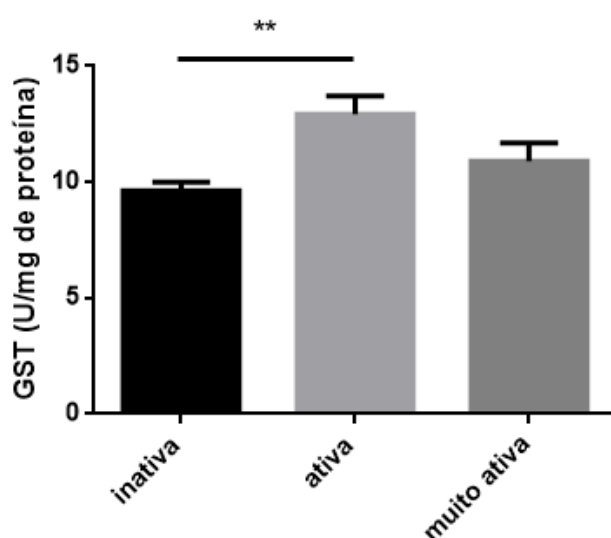


Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa ($7,246 \pm 0,334$ U/mg de proteína, $n=6$), ativa ($6,583 \pm 0,638$ U/mg de proteína, $n=7$) e muito ativa ($7,597$ U/mg de proteína $\pm 0,614$, $n=7$). * $p=0,0185$ *** $p=0,0006$ **** $p < 0,0001$

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

A GST é uma enzima responsável pela detoxificação de compostos que são prejudiciais as células (Figura 8). Nossos resultados mostraram um aumento na atividade da GST entre a prole de mães inativa e ativa (34,2%, ** $p < 0,0085$).

Figura 8 - Avaliação da Atividade da enzima glutathione-S-transferase



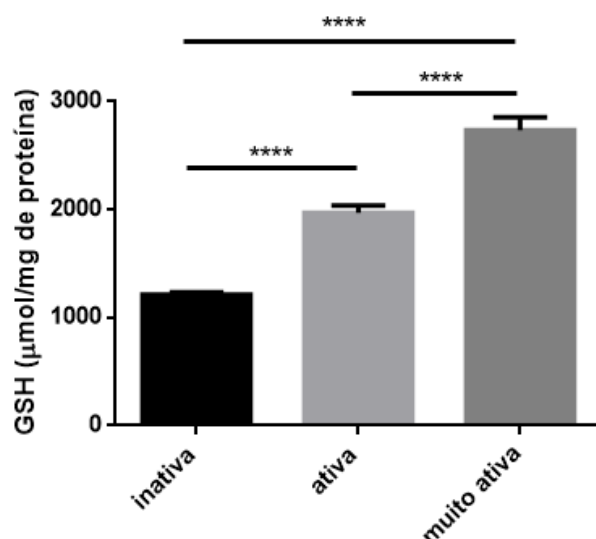
Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa ($9,625 \pm 0,905$ U/mg de proteína, $n=7$), muito ativa ($12,928 \pm 1,812$ U/mg de proteína, $n=7$) e muito ativa ($10,892 \pm 1,976$ U/mg de proteína, $n=7$). ** $p=0,0085$.

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

5.5 Avaliação do sistema antioxidante não enzimático na prole: níveis de glutathiona reduzida (gsh), glutathiona oxidada (gssg), mensuração do estado redox (gsh/gssg) e níveis de thióis totais (sh).

O sistema antioxidante não enzimático participa de diversas reações celulares, sendo capaz de atuar auxiliando na atividade de enzimas antioxidantes para diminuir possíveis danos provenientes de espécies reativas de oxigênio, como também na detoxificação de compostos prejudiciais as células. Ao compararmos os níveis de glutathiona reduzida foi encontrado aumento significativo comparando a prole do grupo ativa e inativa (60%, **** $p<0,0001$), muito ativa e inativa (125,8%, **** $p<0,0001$) e muito ativa e ativa (39%, **** $p<0,001$) (Figura 9). Ao analisarmos os níveis de glutathiona oxidada foi verificado um aumento significativo ao compararmos o grupo da prole de mães muito ativa e ativa (24,4%, * $p=0,0203$) (Figura 10). Com relação ao estado redox (GSG/GSSG) houve um aumento comparando o grupo da prole de mães muito ativa com inativa (112% **** $p<0,0001$), ativa com inativa (71% **** $p<0,0001$) e muito ativa com ativa (24% ** $p=0,003$) (Figura 11).

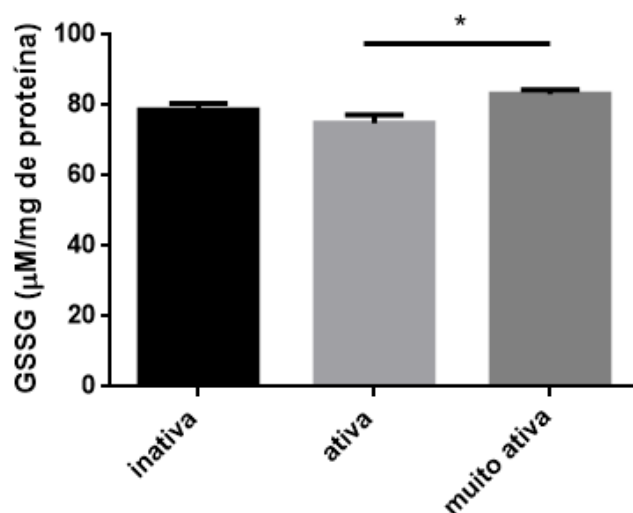
Figura 9 - Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH):



Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa (1212,321±52,313 μM/mg de proteína, n=7), ativa (1968,851±184,037 μM/mg de proteína, n=8) e muito ativa (2737,449±288,075 μM/mg de proteína, n=7). ** $p=0,003$ **** $p<0,0001$

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

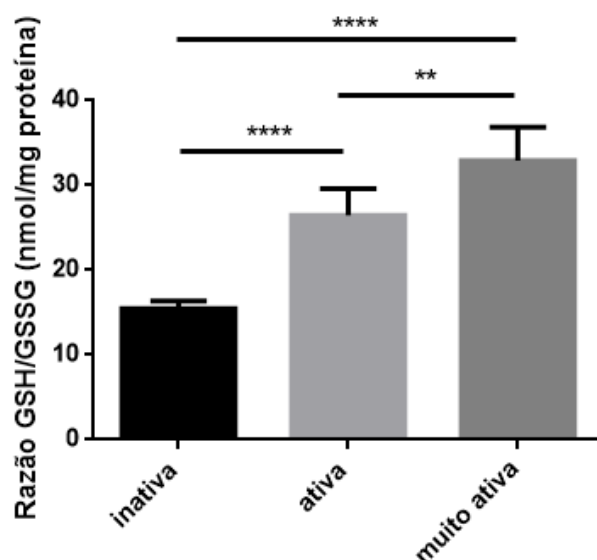
Figura 10 - Avaliação dos níveis de glutathiona oxidada (GSSG)



Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa ($78,592 \pm 4,804$ μM/mg de proteína, n=7) ativa ($74,835 \pm 6,531$ μM/mg de proteína, n=8) e muito ativa ($83,232 \pm 2,983$ μM/mg de proteína, n=7). *p=0,0203.

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

Figura 11 - Avaliação da razão GSH/GSSG



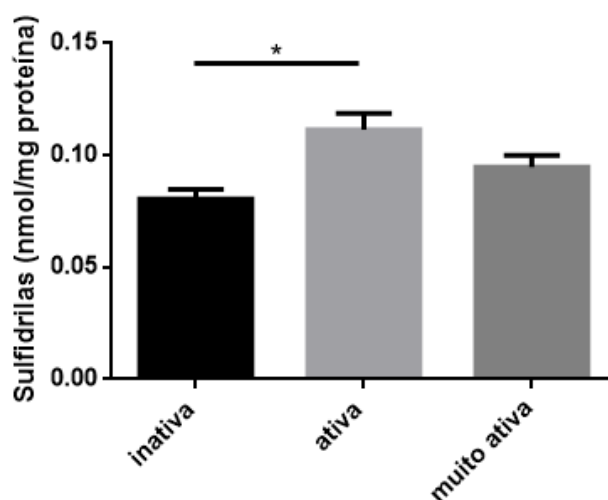
Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa ($15,462 \pm 0,818$, n=7) ativa ($26,460 \pm 2,95$, n=8) e muito ativa ($32,933 \pm 3,657$, n=7). **p=0,0006, ****p<0,0001

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

5.6 Avaliação dos níveis de sulfidrilas-sh na prole

A quantificação de sulfidrilas se dá pelas análises de oxidação a proteínas portadoras de grupos tióis. Podemos perceber ao compararmos o grupo da prole das mães inativas e ativas um aumento no conteúdo de sulfidrilas (37%, $**p=0,0065$) (Figura 12).

Figura 12 - Avaliação dos conteúdos de sulfidrilas-SH



Análise estatística com média e desvio padrão: grupo da prole inativa ($0,018\pm0,010$ nmol/mg de proteína, $n=6$) ativa ($0,111\pm0,020$ nmol/mg de proteína, $n=8$) e muito ativa ($0,095\pm0,013$ nmol/mg de proteína, $n=7$), $*p<0,05$.

Fonte: SANTOS, J. W. O., 2020

6 DISCUSSÃO

A proposta desse trabalho foi avaliar o efeito da atividade física voluntária materna sobre biomarcadores de estresse oxidativo e sistemas antioxidantes da prole na vida adulta. A avaliação do balanço oxidativo hepático pode subsidiar um melhor entendimento sobre a capacidade antioxidante da prole, levando em consideração dados da literatura que indicam uma capacidade de adaptação do fenótipo em relação ao ambiente materno durante períodos críticos do desenvolvimento, podendo dessa forma desencadear o aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta (GLUKMAN; HANSON, 2005; FRAGOSO et al., 2020).

Um dos fatores utilizados para avaliação do estresse oxidativo é a quantificação de biomarcadores de peroxidação lipídica e oxidação proteica. Para avaliação da lipoperoxidação, um dos marcadores mais dosados é o MDA (CZERSKA et al., 2015), um subproduto da lipoperoxidação decorrente da ação de espécies reativas de oxigênio, podendo danificar tecidos e órgãos por causar modificações químicas e físicas a membrana plasmática quando em quantidades elevadas e gerar um quadro de estresse oxidativo, além de poder prejudicar a reprodução de espécies por danificar fragmentos do DNA (UCHIYAMA, 1978; TSIKAS 2017). Nosso trabalho identificou que a partir da atividade física voluntária materna, os níveis de MDA foram diminuídos o que reflete menor lipoperoxidação, menores danos as membranas celulares e degradação de ácidos graxos insaturados, indicando na prole uma melhor fluidez de membranas e permeabilidade celular (BOVERIS; OSHINO; CHANCE, 2008; OLIVEIRA ULBRECHT et al., 2019).

Nosso organismo é dotado de mecanismos antioxidantes capazes de combater agentes oxidantes em excesso e com isso manter homeostase equilíbrio dinâmico celular. Em relação ao sistema antioxidante enzimático destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). A reação enzimática de dismutação do ânion superóxido (O_2^-) realizada pela SOD gera como produto o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que poderá ser catalisado pela reação enzimática da CAT, liberando H_2O e O_2 , ou pode ser reduzido ao radical hidroxil ($OH^\cdot$) na presença de moléculas contendo ferro (Fe^{2+}), através da reação de Fenton (SCHIFFRIN & TOUYZ, 2004; LAWE 2014).

Já é sabido na literatura que o exercício aeróbio moderado consegue aumentar atividade enzimática de enzimas antioxidantes com a SOD e CAT, assim como diminuição nos níveis de peroxidação lipídica, como verificado por KOBE, (2002) ao observar que o exercício aeróbio moderado aumentou a atividade de CAT e SOD na prole pós parto. Além disso, LAMBERTUCCI et al 2007, realizou um protocolo de exercício de 13 semanas, durante 1 hora ao dia a 50-60% do VO_2 máximo e verificou um aumento da enzima catalase no músculo. Nesse sentido, nossos resultados de avaliação da CAT sugerem que o grupo de mães que passou mais tempo em atividades na gaiola gerou um mecanismo protetor para a sua prole aumentando a atividade dessa enzima e com isso menor ação de H_2O_2 no organismo e maior resistência ao estresse oxidativo.

O fígado possui um papel fundamental na manutenção do estado REDOX celular, considerando que 90% da glutathiona reduzida é produzida nesse órgão. A GSH possui um papel fundamental na defesa celular contra radicais livres, pois além de ser o tiol mais abundante produzido, atua também em conjunto com as enzimas GPx e GST (AWASTHI et al., 2004). A GST pertence a uma família multifuncional de enzimas que catalisam a conjugação da molécula de glutathiona a várias outras moléculas, e possuem um papel fundamental em mecanismos de detoxificação intracelular de compostos endo e xenobióticos (CHELVANAYAGAM et al., 2001). Nesse sentido, a atividade da GST foi maior no grupo da prole de mães ativas, o que indica que os filhotes parecem aumentar a capacidade de detoxificação de compostos prejudiciais a célula, o que corrobora também com o aumento significativo da GSH na prole, uma vez que atuam em conjunto para promoverem a diminuição do estresse oxidativo e melhora do estado REDOX celular (HAYES, 2005; YOUNG et al., 2019).

Além disso, a glutathiona reduzida participa da regulação da proliferação celular e da resposta imune, da produção de leucócitos, prostaglandinas e na ativação da GPx doando seu grupamento-SH, na reação que gera a glutathiona oxidada (GSSG), participando também da eliminação de H_2O_2 (FORMAN, 2009; YOUNG et al., 2019). O estado REDOX celular é avaliado pela razão entre GSH/GSSG. A GSSG pode ser revertida a GSH pela reação catalisada pela glutathiona redutase (GR), sendo um indicador de estresse oxidativo celular (MARI, 2009; SCHAFER; BUETTNER 2001; CALABRESE; MORGAN; RIEMER, 2017).

Nossos resultados mostram que a atividade física voluntária das mães melhorou os níveis de GSH na prole, aumentando a proteção do fígado contra a ação de radicais livres e danos oxidativos (BEJMAN; RAMIRES; JI, 2000). Em concordância, outros estudos apontam que o exercício materno de forma moderada melhorou tanto o estado REDOX celular quanto os níveis de GSH da prole através de protocolos moderados em esteira e natação. (LIMA et al., 2013; CECHELLA et al., 2014; SITI et al., 2019).

O sistema da reversibilidade do ciclo de glutathionização e deglutatinização pode ser afetado por intermediários de cisteína nitrosados, produtos comumente presentes em condições patológicas que podem alterar o estado REDOX celular aumentando o estresse oxidativo (MARI, et al 2020). Essas moléculas podem afetar proteínas estratégicas presentes na sinalização celular, transporte de íons, produção de energia e apoptose (HILL; BHATNAGAR 2012). A GSH é sintetizada exclusivamente no citosol, mas pode ser encontrada em diferentes organelas como no retículo endoplasmático, núcleo e nas mitocôndrias (JEVTOVIC-TODOROVIC; GUENTHNER 1992; OESTREICHER; MORGAN 2019).

No entanto, a GSH do núcleo coopera para a manutenção dos níveis de sulfidrilas, que é responsável pela expressão e manutenção de proteínas do DNA (MARKOVIC et al., 2007). A quantificação de sulfidrilas pode ser feita pelas análises de oxidação a proteínas portadoras de grupos tióis. Alguns produtos da lipoperoxidação e os radicais livres podem oxidar essas proteínas provocando um ambiente de estresse oxidativo (PÉREZ, 2012). Os tióis são importantes componentes que desempenham um papel importante na estrutura e função das proteínas, atuando também como desintoxicador celular e na regulação da atividade enzimática, além de aumentar a defesa contra espécies reativas ao oxigênio. Nesse sentido, um aumento no conteúdo de sulfidrilas indica que a prole, em função da atividade física materna, apresenta um ambiente com menor oxidação a proteínas e danos celulares, indicando uma modulação positiva do estado REDOX celular e uma boa função mitocondrial (LILLIG, 2008; LI et al., 2016; MCLEAY et al., 2017).

7 CONCLUSÃO

Nossos resultados sugerem que a atividade física voluntária materna, durante a gestação e lactação, promove uma diminuição na peroxidação lipídica e melhora do balanço oxidativo hepático da prole na vida adulta, diminuindo dessa forma o estresse oxidativo e suas possíveis consequências na vida adulta.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, New York, v. 105, p. 121-6, 1984.

ACMS. **Diretrizes do ACMS para testes de esforço e sua prescrição**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

ALHEIROS-LIRA, M. C. et al. Short-and long-term effects of a maternal low-energy diet ad libitum during gestation and/or lactation on physiological parameters of mothers and male offspring. **European journal of nutrition**, Darmstadt, Germany, v. 54, n. 5, p. 793-802, 2015.

AWASTHI, Y. C. et al. Regulation of 4-hydroxynonenal-mediated signaling by glutathione S-transferases. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 37, n. 5, p. 607-619, 2004.

BEJMAN, J.; RAMIRES, P.; JI, L.L. Free radical generation and oxidative stress with ageing and exercise: differential effects in the myocardium and liver. **Acta Physiologica Scandinavica**, Sweden, v. 169, n. 4, p. 343-351, 2000.

BHATTI, J.S.; BHATTI, G.K.; REDDY, P. Hemachandra. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria based therapeutic strategies. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, London, v. 1863, n. 5, p. 1066-1077, 2017.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, London, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRADLEY, R. L. et al. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, Maryland, v. 295, n. 3, p. E586-E594, 2008.

BOVERIS, A.; OSHINO, N.; CHANCE, B. The cellular production of hydrogen peroxide, London, **Biochem J**. London, v. 128, n. 3, p. 617-30, 1972.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. In: **Methods in enzymology**. Columbus: Academic Press, 1978. p. 302-310.

CALABRESE, G.; MORGAN, B.; RIEMER, J. Mitochondrial glutathione: regulation and functions. **Antioxidants & Redox Signaling**, New York, v. 27, n. 15, p. 1162-1177, 2017.

CAPODAGLIO, E. M. Physical activity, tool for the prevention and management of chronic diseases. **Giornale italiano di medicina del lavoro ed ergonomia**, Siena, v. 40, n. 2, p. 106-119, 2018.

CARTER, L. G. et al. Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, Maryland, v. 303, n. 8, p. E1061-E1068, 2012.

CECHELLA, J. L. et al. Moderate swimming exercise and caffeine supplementation reduce the levels of inflammatory cytokines without causing oxidative stress in tissues of middle-aged rats. **Amino Acids**, Austria, v. 46, n. 5, p. 1187-1195, 2014.

CHELVANAYAGAM, G. et al. Fly fishing for GSTs: a unified nomenclature for mammalian and insect glutathione transferases. Australia 2001.

CHUNG, E. et al. Maternal exercise upregulates mitochondrial gene expression and increases enzyme activity of fetal mouse hearts. **Physiological Reports**, London, v. 5, n. 5, p. e13184, 2017.

CID, M.; GONZÁLEZ, M. Potential benefits of physical activity during pregnancy for the reduction of gestational diabetes prevalence and oxidative stress. **Early human development**, New York, v. 94, p. 57-62, 2016.

CRUZAT, V. F.; TIRAPEGUI, J. Estresse Oxidativo na Atividade Física. In: SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Fisiologia Humana**. Uma Abordagem Integrada. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, Cap. 22. p. 291-306, 2017.

CZERSKA, M et al. Today's oxidative stress markers. **Med Pr.**, Lodz, v. 66, n. 3, p. 393-405, 2015.

DOLIN, C. D.; KOMINIAREK, M. A. Pregnancy in women with obesity. **Obstetrics and Gynecology Clinics**, New York, v.45, n. 2, p. 217-232, 2018.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of biochemistry and biophysics**, London, v. 82, n. 1, p. 70-77, 1959

FORMAN, H. J.; ZHANG, H.; RINNA, A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. **Molecular aspects of medicine**, San Francisco, v. 30, n. 1-2, p. 1-12, 2009.

FERREIRA, D. J. et al. Mitochondrial bioenergetics and oxidative status disruption in brainstem of weaned rats: immediate response to maternal protein restriction. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1642, p. 553-561, 2016.

FRAGOSO, J. et al. Maternal voluntary physical activity attenuates delayed neurodevelopment in malnourished rats. **Experimental physiology**, Cambridge, v. 102, n. 11, p. 1486-1499, 2017.

FRAGOSO, J. et al. Maternal physical activity-induced adaptive transcriptional response in brain and placenta of mothers and rat offspring. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, Cambridge, v. 11, n. 2, p. 108-117, 2020.

GEORGESCU, V. P. et al. Effect of exercise-induced dehydration on circulatory markers of oxidative damage and antioxidant capacity. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, Boone, v. 42, n. 7, p. 694-699, 2017.

GHOSH, N. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage and cell death. In: **Immunity and inflammation in health and disease**. Columbus: Academic Press, 2018. pp. 45-55.

GLUCKMAN, P. D. et al. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 359, n. 1, p. 61-73, 2008.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Metabolic disease: evolutionary, developmental and transgenerational influences. In: *The Impact of Maternal Nutrition on the Offspring*. **Karger Publishers**, Basileia, p. 17-27, 2005.

GLUCKMAN, P. D. et al. The fetal, neonatal, and infant environments—the long-term consequences for disease risk. **Early human development**, Auckland v. 81, n. 1, p. 51-59, 2005.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition reviews**, Oxford, v. 70, n. 5, p. 257-265, 2012.

HALL, I. E. et al. Glutathione S-transferase iso-enzymes in perfusate from pumped kidneys are associated with delayed graft function. **American Journal of Transplantation**, New Haven, v. 14, n. 4, p. 886-896, 2014.

HAYES, J. D.; DINKOVA-KOSTOVA, Albena T.; TEW, Kenneth D. Oxidative stress in cancer. **Cancer cell**, New York, 2020.

HE, L. et al. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. **Cellular Physiology and Biochemistry**, Düsseldorf, v. 44, n. 2, p. 532-553, 2017.

HILL, B. G.; BHATNAGAR, A. Protein S-glutathiolation: redox-sensitive regulation of protein function. **Journal of molecular and cellular cardiology**, Louisville, v. 52, n. 3, p. 559-567, 2012.

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

HOPKINS, S. A. et al. Effects of exercise training on maternal hormonal changes in pregnancy. **Clinical endocrinology**, Oxford, 74, n. 4, p. 495-500, 2011.

HUANG, C.J. et al. Obesity-related oxidative stress: the impact of physical activity and diet manipulation. **Sports medicine-open**, California, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2015.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Â. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.

KADIISKA, M. B. et al. Biomarkers of oxidative stress study II: are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl₄ poisoning?. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 38, n. 6, p. 698-710, 2005.

KASCH, J. et al. Beneficial effects of exercise on offspring obesity and insulin resistance are reduced by maternal high-fat diet. **PloS one**, San Francisco, v. 12, n. 2, p. e0173076, 2017.

KOZAKIEWICZ, M. et al. Relation of Moderate Physical Activity to Blood Markers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense in the Elderly. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, London, v. 2019, 2019.

KOBE, H. et al. Effect of regular maternal exercise on lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activities before and after delivery. **Journal of Nippon Medical School**, Tokyo, v. 69, n. 6, p. 542-548, 2002.

LEANDRO, C. G. et al. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. **European journal of nutrition**, Darmstadt, Germany, v. 51, n. 7, p. 807-815, 2012.

LECHUGA-SANCHO, A. M. et al. Obesity induced alterations in redox homeostasis and oxidative stress are present from an early age. **PLoS One**, San Francisco, v. 13, n. 1, p. e0191547, 2018.

LESZCZYNSKI, E. C.; VISKER, J. R.; FERGUSON, D. P. The Effect of Growth Restriction on Voluntary Physical Activity Engagement in Mice. **Medicine and science in sports and exercise**, New York, v. 51, n. 11, p. 2201, 2019.

LI, C. et al. Exercise coupled with dietary restriction reduces oxidative stress in male adolescents with obesity. **Journal of sports sciences**, São Paulo, v. 35, n. 7, p. 663-668, 2017.

LILLIG, C.H.; BERNDT, C.; HOLMGREN, A. Glutaredoxin systems. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, New York, v. 1780, n. 11, p. 1304-1317, 2008.

LIMA, F. D. et al. Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 2, p. e55668, 2013.

LIU, J. et al. Aerobic exercise preconception and during pregnancy enhances oxidative capacity in the hindlimb muscles of mice offspring. **Journal of strength and conditioning research**, Colorado Springs, v. 32, n. 5, p. 1391, 2018.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. **Methods**, London, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Braz J Biol**, São Paulo, v. 62, n. 4A, p. 609-14, Nov 2002.

MARI, M. et al. Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. **Antioxidants & redox signaling**, New York, v. 11, n. 11, p. 2685-2700, 2009.

MARI, M. et al. Mitochondrial glutathione: Recent Insights and Role in Disease. **Antioxidants**, Basel, v. 9, n. 10, p. 909, 2020.

MCLEAY, Y. et al. Dietary thiols in exercise: oxidative stress defence, exercise performance, and adaptation. **Journal of the international society of sports nutrition**, San Francisco, v. 14, n. 1, p. 1-8, 2017.

MEISTER, A.; ANDERSON, M. E.; HWANG, O. Intracellular cysteine and glutathione delivery systems. **Journal of the American College of Nutrition**, Clearwater, v. 5, n. 2, p. 137-151, 1986.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological chemistry**, Sweden, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

MOHAMMADI, M. et al. Voluntary exercise prevents lead-induced elevation of oxidative stress and inflammation markers in male rat blood. **The Scientific World Journal**, London, v. 2013, 2013.

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

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. v. 6. ed. **Artmed**, Porto Alegre, 2014.

NOLFI-DONEGAN, D.; BRAGANZA, A.; SHIVA, S. Mitochondrial Electron Transport: Oxidative Phosphorylation, Mitochondrial Oxidant Production, and Methods of Measurement. **Redox Biology**, São Paulo, p. 101674, 2020.

OESTREICHER, J.; MORGAN, B. Glutathione: subcellular distribution and membrane transport. **Biochemistry and Cell Biology**, Uppsala v. 97, n. 3, p. 270-289, 2019.

OLIVEIRA ULBRECHT, M. O. et al. Association Between Selenium and Malondialdehyde as an Efficient Biomarker of Oxidative Stress in Infantile Cardiac Surgery. **Biological Trace Element Research**, Paris, v. 187, n. 1, p. 74-79, 2019.

PAGANO, G. et al. Congenital disorders sharing oxidative stress and cancer proneness as phenotypic hallmarks: prospects for joint research in pharmacology. **Medical hypotheses**, São Paulo, v. 51, n. 3, p. 253-266, 1998.

PÉREZ, Y. G. et al. Malondialdehyde and sulfhydryl groups as biomarkers of oxidative stress in patients with systemic lupus erythematosus. **Revista brasileira de reumatologia**, São Paulo, v. 52, n. 4, p. 658-660, 2012.

PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic acids research**, Oxford, v. 29, n. 9, p. e45-e45, 2001.

RAMÍREZ-VÉLEZ, R. et al. Influence of regular aerobic exercise on endothelium-dependent vasodilation and cardiorespiratory fitness in pregnant women. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, New York, v. 37, n. 11, p. 1601-1608, 2011.

ROSA, B. V. et al. Voluntary exercise in pregnant rats positively influences fetal growth without initiating a maternal physiological stress response. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Oxford, v. 300, n. 5, p. R1134-R1141, 2011.

RUSZKIEWICZ, J.; ALBRECHT, J. Changes of the thioredoxin system, glutathione peroxidase activity and total antioxidant capacity in rat brain cortex during acute liver failure: modulation by L-histidine. **Neurochemical Research**, Oxford, v. 40, n. 2, p. 293-300, 2015.

SANTANA MUNIZ, G et al. Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. **Physiol Behav**, London, v. 129, p. 1-10, Apr 22 2014.

SANTOS-ALVES, E. et al. Exercise modulates liver cellular and mitochondrial proteins related to quality control signaling. **Life sciences**, Munique, v. 135, p. 124-130, 2015.

SCHAFER, F.Q.; BUETTNER, G.R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free radical biology and medicine**, New York, v. 30, n. 11, p. 1191-1212, 2001.

SCHIFFRIN, E. L.; TOUYZ, R. M. From bedside to bench to bedside: role of renin-angiotensin-aldosterone system in remodeling of resistance arteries in hypertension. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, Washington, v. 287, n. 2, p. H435-H446, 2004.

SEGOVIA, S. A. et al. Maternal obesity, inflammation, and developmental programming. **BioMed research international**, London, v. 2014, 2014.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, Oxford, v. 2012, 2012.

SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 27, n. 9-10, p. 916-921, 1999.

SINGH, A. et al. Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. **Molecules**, Basel, v. 24, n. 8, p. 1583, 2019.

STAERCK, C. et al. Microbial antioxidant defense enzymes. **Microbial Pathogenesis**, Washington, v. 110, p. 56-65, 2017.

STIES, S. W. et al. Influence of exercise on oxidative stress in patients with heart failure. **Heart failure reviews**, Novosibirsk, v. 23, n. 2, p. 225-235, 2018.

TSIKAS, D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. **Analytical biochemistry**, New York, v. 524, p. 13-30, 2017.

UCHIYAMA, M; MIHARA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Analytical biochemistry**, New York, v. 86, n. 1, p. 271-278, 1978

VAN ELTEN, T. M. et al. Diet and physical activity in pregnancy and offspring's cardiovascular health: a systematic review. **Journal of developmental origins of health and disease**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 286-298, 2019.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, Uppsala, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

YAMAUCHI, Y. et al. Malondialdehyde generated from peroxidized linolenic acid causes protein modification in heat-stressed plants. **Plant physiology and biochemistry**, Uppsala, v. 46, n. 8-9, p. 786-793, 2008.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VAN DEUTEKOM, A. W. et al. Study protocol: the relation of birth weight and infant growth trajectories with physical fitness, physical activity and sedentary behavior at 8-9 years of age-the ABCD study. **BMC pediatrics**, London, v. 13, n. 1, p. 102, 2013.

VEGA, C. C. et al. Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. **International journal of obesity**, Washington, v. 39, n. 4, p. 712-719, 2015.

VONA, R. et al. Biomarkers of oxidative stress in metabolic syndrome and associated diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, London, v. 2019, 2019.

WANG, Z. et al. Effects of malondialdehyde as a byproduct of lipid oxidation on protein oxidation in rabbit meat. **Food chemistry**, London, v. 288, p. 405-412, 2019.

YAMAMOTO, T. et al. Relation between voluntary physical activity and oxidant/antioxidant status in rats. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, Uppsala, v. 135, n. 2, p. 163-168, 2003.

YANG, A.; GILL, R.; MAILLOUX, R.J. Protein S-glutathionylation: The linchpin for the transmission of regulatory information on redox buffering capacity in mitochondrial. **Chem. Biol. Interact**, London, v. 299, p. 151-162, 2019.

YORK-DURAN, M. J. et al. A dual-component carrier with both non-enzymatic and enzymatic antioxidant activity towards ROS depletion. **Biomaterials science**, v. 7, n. 11, p. 4813-4826, 2019.

YOSHIKAWA, T.; NAITO, Y. What is oxidative stress? **Japan medical association journal**, Japan, v. 45, n. 7, p. 271-276, 2002.

ZHAO, R. et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling. **International journal of molecular medicine**, Uppsala, v. 44, n. 1, p. 3-15, 2019.

ZANATTA, Â. et al. Neurochemical evidence that the metabolites accumulating in 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency induce oxidative damage in cerebral cortex of young rats. **Cellular and molecular neurobiology**, Berlin, v. 33, n. 1, p. 137-146, 2013.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 01 de setembro de 2017.

Ofício nº 88/17

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

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

Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte

Centro Acadêmico de Vitória

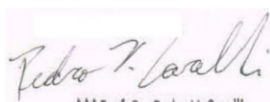
Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº **23076.017125/2017-47**

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

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

Atenciosamente,


Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SIAPE 1801584