

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

CURSO DE BIOMEDICINA

NATHANNY GRAZIELA FERREIRA HIPÓLITO

**CONSUMO ELEVADO DE CARBOIDRATOS DURANTE A GESTAÇÃO E  
LACTAÇÃO E AS REPERCUSSÕES HEPÁTICAS E METABÓLICAS PARA A PROLE  
DE RATAS *WISTAR***

UBERLÂNDIA

2022

NATHANNY GRAZIELA FERREIRA HIPÓLITO

**CONSUMO ELEVADO DE CARBOIDRATOS DURANTE A GESTAÇÃO E  
LACTAÇÃO E AS REPERCUSSÕES HEPÁTICAS E METABÓLICAS PARA A PROLE  
DE RATAS *WISTAR***

Trabalho de conclusão de curso apresentado pela discente Nathanny Graziela Ferreira Hipólito como requisito para obtenção de Bacharel em Biomedicina, pelo curso de Biomedicina na Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador(a): Prof. Dra. Ana Paula Coelho Balbi.

UBERLÂNDIA

2022

NATHANNY GRAZIELA FERREIRA HIPÓLITO

**CONSUMO ELEVADO DE CARBOIDRATOS DURANTE A GESTAÇÃO E  
LACTAÇÃO E AS REPERCUSSÕES HEPÁTICAS E METABÓLICAS PARA A PROLE  
DE RATAS *WISTAR***

Trabalho de conclusão de curso apresentado pela discente Nathanny Graziela Ferreira Hipólito como requisito para obtenção de Bacharel em Biomedicina, pelo curso de Biomedicina na Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador(a): Prof. Dra. Ana Paula Coelho Balbi.

**Banca examinadora:**

---

Dra. Ana Paula Coelho Balbi – Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM - UFU)

---

Dra. Vanessa Beatriz Monteiro Galassi Spini – Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM - UFU)

---

Dra. Simone Ramos Deconte – Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM - UFU)

UBERLÂNDIA

2022

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter me concedido força e saúde, além de fortalecer a minha fé para seguir adiante independente das dificuldades do percurso.

Aos meus pais, Sheila e Marciel que não mediram forças para me auxiliar durante todo esse período, tanto com palavras de carinho e conforto quanto suporte financeiro para que eu continuasse meus estudos. Serei grata eternamente por terem me possibilitado essa oportunidade de crescimento pessoal. À minha família que mesmo pequena me gerou uma grande rede de apoio e sempre se mostraram muito prestativos e solidários: minha irmã Nicolly, meus primos Nikolas e Charles Júnior e meu namorado João Maurício.

Agradeço à minha orientadora, prof.<sup>a</sup> Ana Paula, que me ensinou que com luta e persistência somos capazes de fazer qualquer coisa, inclusive as que nós mesmos duvidamos que sejamos capazes de realizar. Sou grata por ter aberto as portas do laboratório para mim não apenas como orientadora, mas como amiga e por todos os conselhos que levarei comigo para toda a vida, seja profissional ou pessoal.

Aos meus amigos de laboratório: Simone, Fernanda, Táríka, Isabella, Bruno e Taís que me acompanharam de perto durante toda essa trajetória. Obrigada pelos ensinamentos e pela parceria, o apoio de vocês tornou tudo melhor e mais leve.

Aos meus amigos de curso, que levarei da Biomedicina para a vida: Ianca, Letícia, Lucas, Joice, Mariana e Franciele. Que me mostraram que a amizade vai muito além da distância e de ser presente apenas nos bons momentos. Obrigada por todas as vezes que pude contar com a ajuda, companhia, consolo e também todo o aprendizado que me proporcionaram ao longo de todos esses anos.

*“Não é o que o mundo reserva para você, mas o  
que você traz para o mundo”*

*- Anne With an E*

## RESUMO

A alimentação saudável durante a gestação e lactação é crucial para o desenvolvimento da prole, uma vez que dietas alteradas podem modificar o ambiente intrauterino e gerar complicações na saúde da progênie na vida adulta. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi identificar os impactos hepáticos e metabólicos para a prole de ratas *Wistar* tratadas com frutose ou sacarose durante a gestação e lactação. Para isso, as fêmeas foram colocadas para cruzamento e, uma vez grávidas, as mães foram separadas e seus filhotes fêmeas de 90 dias divididos nos seguintes grupos: 1) Grupo Controle (C): filhotes (n=8) de mães que receberam água e ração comercial *ad libitum*; 2) Grupo Frutose (F): filhotes (n=8) de mães que receberam solução de frutose (20%) e ração comercial *ad libitum*; 3) Grupo Sacarose (S): filhotes (n=7) de mães que receberam solução de sacarose (20%) e ração comercial, *ad libitum*. A prole de 90 dias passou por avaliações metabólicas, estruturais e funcionais hepáticas. Foi observado que as mães dos grupos experimentais F e S ingeriram menos ração do que as mães do grupo C ( $p < 0,01$ ), contudo, apenas as mães do grupo S ingeriram maior quantidade de líquido ( $p < 0,01$  versus C;  $p < 0,05$  versus F); a glicemia e o ganho de peso corporal não foram diferentes entre os grupos ( $p < 0,05$ ). Quanto aos filhotes de 90 dias, a creatinina plasmática e a glicemia não foram diferentes entre os grupos ( $p < 0,05$ ), porém o colesterol total foi maior no grupo F, em comparação ao grupo. Já os triglicerídeos foram maiores nos 2 grupos experimentais (F e S), quando comparados aos controles, e diferentes entre si, com maiores taxas no grupo S ( $p < 0,001$  versus C;  $p < 0,01$  versus C;  $p < 0,001$  versus F). Quanto a atividade de enzimas hepáticas, a TGO foi maior no grupo S, em relação aos demais grupos, enquanto a TGP foi maior nos grupos experimentais (F e S), em comparação ao C ( $p < 0,001$  versus C;  $p < 0,05$  versus C;  $p < 0,05$  versus F). O peso corporal, peso relativo hepático e dados morfométricos não foram diferentes ( $p < 0,05$ ), mas a deposição de colágeno foi menor nos grupos experimentais em relação ao C ( $p < 0,01$  versus C;  $p < 0,05$  versus C). O consumo de dieta rica em carboidratos durante a gestação e lactação de ratas *Wistar* resultou em alterações metabólicas e hepáticas funcionais na prole de 90 dias. Além disso, a sacarose promoveu alterações diferentes nos parâmetros triglicerídeos plasmáticos e atividade da TGO.

**Palavras-chave:** Dieta materna, Frutose, Sacarose, Prole, Fígado e Ratas Wistar.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>11</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
3.1 Objetivo Geral.....	12
3.2 Objetivos Específicos.....	12
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>13</b>
4.1 Animais.....	13
4.2 Dosagens plasmáticas.....	14
4.3 Preparo do material.....	15
4.3.1 Análise Morfométrica.....	15
4.3.2 Análise de Colágeno.....	16
4.4 Análise Estatística.....	17
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>18</b>
5.1 Dados maternos.....	18
5.2 Dados da prole.....	18
5.2.1 Glicemia, Creatinina plasmática, Colesterol Total e Triglicerídeos.....	18
5.2.2 Atividade de enzimas hepáticas, ganho de peso corporal e peso relativo hepático.....	19
5.2.3 Dados morfométricos hepáticos.....	20
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>22</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>25</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>26</b>
<b>9. ANEXO.....</b>	<b>30</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O fígado é o maior órgão humano, depois da pele, e dentre várias de suas funções, uma delas é transformar e armazenar substâncias endógenas e exógenas removidas do sangue, levando-as de volta para a circulação ou para serem excretadas na bile. Além disso, são descritas outras finalidades como: funções metabólicas, de síntese, degradação, armazenamento, desintoxicação e excreção (AIRES, 2012). O fígado é dividido em dois lobos (direito e esquerdo), sendo o esquerdo, em definição de tamanho, menor que o direito (TORTORA, 2018). A vesícula se localiza abaixo do lobo direito do fígado e tem formato de pera. O ducto cístico se interliga com o ducto hepático comum, formando o ducto biliar. De maneira geral, o ducto biliar é grande e desemboca no duodeno, logo abaixo do piloro (AIRES, 2012).

No período de desenvolvimento embrionário humano, o fígado, a vesícula biliar e os ductos biliares surgem como um crescimento ventral (divertículo hepático), desde a porção caudal do intestino anterior, no início da 4<sup>o</sup> semana (MOORE, 2016). Por volta da 10<sup>a</sup> semana, o peso do fígado corresponde a cerca de 10% do peso corporal do feto (NAZARI, 2011). Em roedores, a gestação é de 21 dias e pesquisadores observaram que entre o 14<sup>o</sup> e 16<sup>o</sup> dia do desenvolvimento embrionário dos ratos, é o período em que possuem a maior concentração de células progenitoras e de diferenciação celular hepáticas (OERTEL, 2006). Apesar da diferença quanto ao número de lobos hepáticos entre ratos (quatro lobos) e humanos (dois lobos), ambas as espécies pertencem à classe *Mammalia*, com desenvolvimento embrionário e as estruturas fundamentais semelhantes (KOGURE, 1999).

A programação fetal é um conceito dentro da epidemiologia reprodutiva que liga as exposições durante a vida fetal com o desenvolvimento posterior de doenças na prole (ANDERSEN, 2021), demonstrando de forma evidente que interferências ocorridas durante o desenvolvimento fetal podem causar alterações permanentes na prole, que posteriormente, podem possibilitar desfechos adversos (STEVENSON, 2020). Estudos demonstraram que tanto a desnutrição quanto a obesidade maternas alteram o crescimento e desenvolvimento fetal, levando a uma predisposição da prole a doenças crônicas na vida adulta (ODHIAMBO, 2020).

Segundo dados apresentados pelo IBGE (2009), nos anos de 1974 a 1985 homens e mulheres já apresentavam excesso de peso ou estavam obesos. Entre 2008 e 2009, o excesso de peso e a obesidade triplicaram com o passar dos anos. Tais índices relacionados à população brasileira são causados pelas mudanças nos padrões alimentares, tanto de consumo quanto de produção e comercialização dos alimentos. Essa situação é caracterizada pela substituição de alimentos tradicionais como cereais, raízes e tubérculos por alimentos industrializados ricos em gorduras e açúcares (VAZ, 2014).



O estado nutricional durante a gravidez pode ter um impacto significativo nos resultados de saúde materna e neonatal. As necessidades de macronutrientes, como carboidratos e proteínas, aumentam durante a gravidez para manter a homeostase materna e, ao mesmo tempo, apoiar o crescimento fetal. Certos micronutrientes também são vitais para melhorar os resultados da gravidez, incluindo ácido fólico para prevenir defeitos do tubo neural e iodo para prevenir o cretinismo (MOUSA, 2019).

No contexto de dietas alteradas que podem levar à obesidade materna, pode-se considerar o consumo excessivo de carboidratos, quando comparados aos demais macronutrientes. O açúcar é uma mercadoria altamente agradável, devido ao sabor, e amplamente acessível. Devido ao seu efeito recompensador no cérebro, o comportamento alimentar é frequentemente dissociado da sensação de fome, levando ao consumo excessivo de alimentos e bebidas açucarados. A maior ingestão de açúcares livres na dieta, especialmente na forma de refrigerantes, é um fator de risco bem documentado para obesidade e doenças bucais, além de estudos sugerirem uma ligação com outras doenças metabólicas (ZUPANIC, 2020).

Entre os carboidratos está a sacarose, um dissacarídeo composto por frutose e glicose, sendo rapidamente absorvida pelos tecidos, após induzir uma alta liberação de insulina. Já a frutose é um monossacarídeo que, após ser absorvida pelo intestino, alcançará o fígado onde poderá ser transformada em glicose e armazenada na forma de glicogênio ou ser utilizada como fonte de energia pelos hepatócitos, de forma independente da insulina (SCHULTZ, 2015).

O consumo de açúcares (como a frutose e sacarose) que são adicionados durante o processamento ou preparação de alimentos aumentou rapidamente em todo o mundo (KISIOGLU, 2020) e assim como uma alimentação nutritiva pode gerar qualidade de vida para o desenvolvimento do feto, durante sua formação, uma alimentação hipercalórica pode gerar complicações em longo prazo, que podem incluir: resistência à insulina, diminuição da tolerância à glicose e diabetes mellitus tipo 2 (BIANCO, 2019), assim como o risco de doenças metabólicas, sobrepeso e obesidade quando adulto (SHAPIRO, 2017).

O aumento da prevalência de dietas com alto teor calórico, excesso de peso e sedentarismo é uma realidade em determinados países e é a razão pela qual contribui para diversas alterações fisiológicas para a prole na vida adulta, quando adotada pela mãe, durante a gestação e/ou lactação. O excesso de uma dieta hipercalórica materna durante a gestação pode levar a falhas na dinâmica das mitocôndrias, incluindo modificações na fissão e fusão mitocondrial (que auxiliam na manutenção da homeostase dessa organela) futuramente na prole adulta. Essas alterações estão potencialmente ligadas ao comprometimento metabólico e suscetibilidade a doenças, comprometendo a função de órgãos como músculos, tecido adiposo, fígado e cérebro (CARDENAS-PEREZ, 2018). Em um estudo realizado por ALFARADHI e colaboradores (2014)

constatou-se que filhos de mães obesas, que consumiram dieta hiperlipídica, desenvolveram complicações metabólicas, incluindo doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), hiperinsulinemia e maior teor de lipídeos hepáticos, bem como uma redução na lipase de triglicerídeos, do glicogênio e proteínas hepáticas. Outro estudo, porém, realizado com dieta hipocalórica materna com restrição de proteína, provocou redução nas massas da placenta e dos fetos quando comparados aos controles. A relação lipídeo/glicogênio no fígado estava reduzida, assim como também foi observado a redução de proteínas séricas como a albumina (BALLEN, 2009).

A nutrição materna durante a gravidez afeta tanto a funcionalidade da placenta e a formação do feto, quanto o seu metabolismo. Esse parâmetro vem sendo tratado como um fator importante durante o acompanhamento da gestação visto que, com uma alimentação adequada, a mãe e conseqüentemente a prole não serão acometidos prejudicialmente em relação à saúde e bem-estar geral (MORRISON, 2016).

## 2. JUSTIFICATIVA

Considerando os relatos na literatura sobre os efeitos do consumo materno de dietas alteradas para as mães e para o desenvolvimento da progênie, é reconhecido que um bom estado nutricional materno é indicador de saúde e qualidade de vida tanto para a mulher quanto para o crescimento do seu filho. Contudo, alguns países enfrentam situações tanto de subnutrição quanto do aumento do sobrepeso. O Brasil, particularmente, encontra-se numa fase de transição epidemiológica, com alteração no perfil de morbimortalidade populacional, na qual a obesidade tem assumido o lugar de doenças infecciosas e parasitárias (DE FREITAS, 2011)

Tendo em vista tais considerações, esse trabalho teve como propósito avaliar os possíveis efeitos metabólicos e hepáticos para a prole de ratas *Wistar*, expostas à dieta rica em carboidratos na gestação e lactação, analisando-se se há interferência somente do excesso de carboidratos ou do tipo de carboidrato ingerido, uma vez que a sacarose e a frutose são carboidratos normalmente consumidos pela população.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos hepáticos e metabólicos na prole adulta de ratas *Wistar* expostas à dieta rica em diferentes carboidratos (sacarose e frutose), durante a gestação e lactação.

#### 3.2 Objetivos Específicos

a) Avaliar a glicemia, peso corporal, consumo de ração e de líquidos de ratas *Wistar* expostas a dieta rica em carboidratos, durante a gestação e lactação.

b) Avaliar se os filhotes (fêmeas) de 90 dias de mães expostas à dieta rica em carboidratos (sacarose e frutose) na gestação e lactação apresentam alterações no que diz respeito:

- A estrutura geral do fígado;
- A dosagem de enzimas hepáticas: Transaminase Oxalacética (TGO) e Transaminase Pirúvica (TGP);
- A glicemia e perfil lipídico;
- Morfometria hepática: áreas do hepatócito, núcleo, citoplasma e relativa (núcleo/citoplasma); e
- Deposição de colágeno total e colágenos tipos I e III no fígado.

c) Além disso, verificar se o tipo de carboidrato ingerido em excesso pelas mães terá repercussões metabólicas e hepáticas diferentes para a prole.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Foram utilizados para acasalamento 10 ratos *Wistar* machos de 300g e 25 fêmeas de 180g, provenientes do biotério central da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os animais foram mantidos separados em caixas por sexo, distribuídas em estantes em sala com temperatura controlada, ciclo claro-escuro de 12 horas e com água e ração *ad libitum*, no Biotério Central da Rede de Biotérios de Roedores da UFU (REBIR/UFU) (Figura 1 e 2). Todos os protocolos contidos nesse projeto encontram-se aprovados pelo Comitê de Ética na Utilização Animal (CEUA) da UFU (protocolo CEUA 015/19) (ANEXO I).

Figura 1

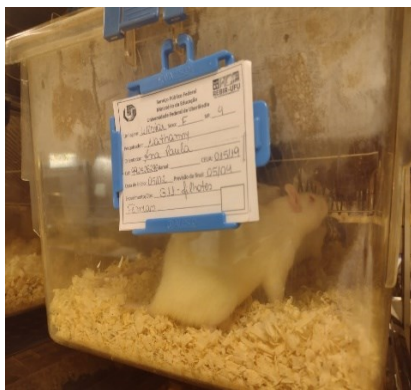
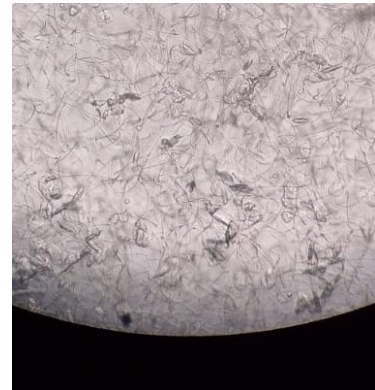


Figura 2



Figura 3



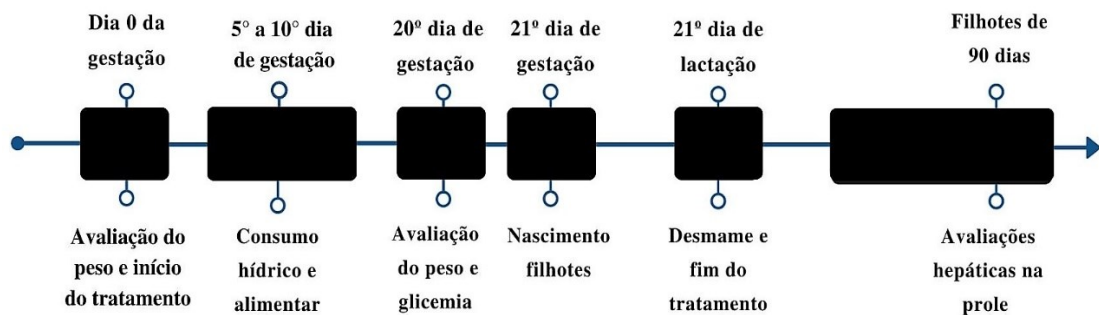
Fonte: Nathanny Hipólito (2022)

No final da tarde de cada dia, as fêmeas foram colocadas nas caixas dos machos (separados anteriormente para habituar-se com o território), na proporção de 2 a 3 fêmeas para cada macho. No início da manhã do próximo dia foi realizado o esfregaço vaginal de cada rata para verificação de uma possível gravidez, pela presença de espermatozoides no esfregaço (Figura 3). Uma vez grávidas, as fêmeas foram postas em caixas individuais e tratadas até o último dia de gestação de acordo com a dieta determinada a cada grupo. Após o nascimento e posterior desmame, as filhotes fêmeas foram divididas nos seguintes grupos:

- Grupo 1 (**G1 – Controle – 8 animais**): filhotes fêmeas de 90 dias de mães que receberam ração comercial e água *ad libitum* durante a gestação e lactação;
- Grupo 2 (**G2 – Sacarose – 7 animais**): filhotes fêmeas de 90 dias de mães que receberam ração comercial e solução de sacarose 20%, em substituição à água, *ad libitum* durante a gestação e lactação.

- Grupo 3 (**G3 – Frutose – 8 animais**): filhotes fêmeas de 90 dias de mães que receberam ração comercial e solução de frutose 20%, em substituição à água, *ad libitum* durante a gestação e lactação.

As mães foram acompanhadas durante a gestação no que diz respeito ao consumo de ração e de líquidos, peso inicial e final e glicemia. Já os filhotes fêmeas de 90 dias foram submetidos à coleta de sangue, por ordenhamento de cauda, e somente depois foram devidamente anestesiados com halotano (Cristália) e tiveram seus fígados coletados e pesados. Após a coleta, fragmentos hepáticos foram fixados em methacarn por 24 horas e, posteriormente, lavado em álcool 70% para a realização das análises histológicas. As amostras de sangue foram coletadas para determinação da glicemia, perfil lipídico (colesterol total e triglicerídeos) e atividade de enzimas hepáticas.



Linha do tempo – Tratamento materno

Fonte: Nathanny Hipólito (2022)

#### 4.2 Dosagens plasmáticas

A glicemia foi verificada com o auxílio de um glicosímetro (*Accu Check Active*) (Figura 4). Já as determinações de colesterol total e triglicerídeos (Figura 5), bem como a atividade das enzimas hepáticas (TGO e TGP), foram feitas por método colorimétrico, com leitura no aparelho espectrofotômetro (Figura 6).

Figura 4



Figura 5



Figura 6



Fonte: Nathanny Hipólito (2022)

### 4.3 Preparo do material

Para a análise morfométrica e de colágeno total, o fígado foi submetido à inclusão em parafina (Figura 7) e, posteriormente, realizadas as secções de tecido hepático em um micrótomo (5  $\mu\text{m}$  de espessura) (Figura 8). As lâminas foram coradas com *Picrosirius Red*, para determinação da deposição de colágeno total do fígado coletado, e com Hematoxilina-Eosina (HE), para a análise morfométrica (áreas do hepatócito, do núcleo, do citoplasma e avaliações da relação entre núcleo e citoplasma (Figura 9).

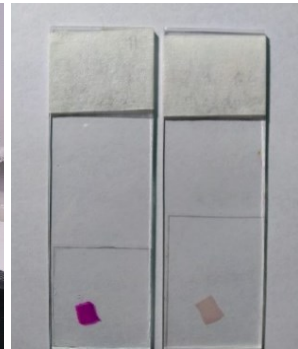
Figura 7



Figura 8



Figura 9



Fonte: Nathanny Hipólito (2022)

#### 4.3.1 Análise Morfométrica

Quanto à análise morfométrica hepática, as lâminas coradas em HE foram escaneadas no Scanner de lâminas *ScanScope AT* (Figura 10) na Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM – UFU) e posteriormente fotografadas as imagens dos campos escolhidos através do Software *Aperio Image Scope*, associado ao aparelho. Foram capturados 2 campos por lâmina com aumento de 20x (Figura 11). Para as análises foi utilizado o Software *ImageJ* utilizando 20 hepatócitos (10 por campo) (Figura 12), com objetivo de analisar: área total do hepatócito (AT), área do núcleo do

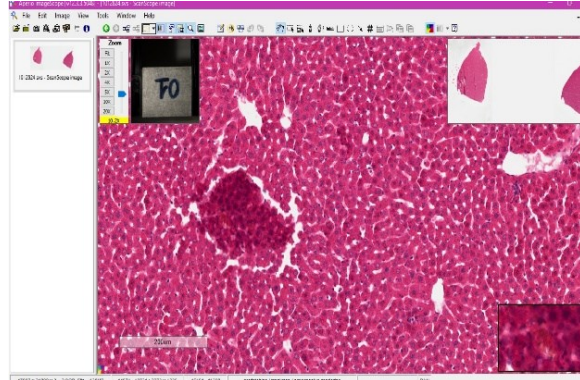


hepatócito (AN), área do citoplasma do hepatócito (AC) e razão entre área do núcleo e área do citoplasma (AN/AC). As medidas usadas para tal verificação foi de  $2\mu\text{m}$ .

Figura 10

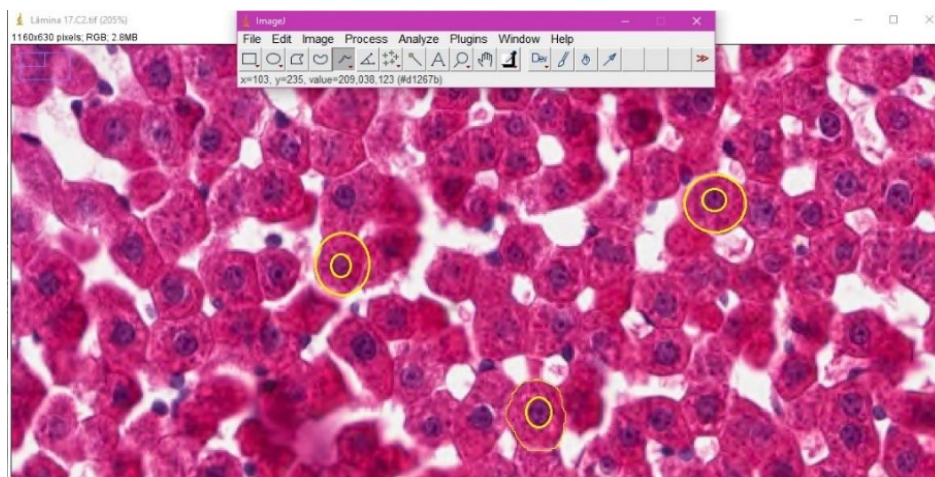


Figura 11



Fonte: Nathanny Hipólito (2022)

Figura 12



Fonte: Nathanny Hipólito (2022)

#### 4.3.2 Análise de Colágeno

Para a análise de colágeno hepático foram utilizados as lâminas coradas em *Picrosirius Red*, fotografadas no microscópio de luz e fluorescência invertido *Nikon Ti-S* no laboratório de Morfologia e Cultura Ceular (LAMOC-UFU). A combinação da coloração com vermelho de *Picrosirius* e a luz polarizada fornece uma ferramenta para a análise estrutural do colágeno (MONTES; JUNQUEIRA, 1991; RICH; WHITTAKER, 2005). Após uma lesão o reparo tecidual depende da capacidade regenerativa do tecido e da qualidade da resposta inflamatória, o resultado geralmente é imperfeito e com algum grau de fibrose, que é definido pela deposição de tecido conjuntivo colagenoso do local em questão (EMING, 2017). Assim, essa coloração (*Picrosirius*



*Red*), é um dos métodos mais utilizados para evidenciar a presença de fibras colágenas nos tecidos, especialmente as fibras de colágeno mais espessas (colágeno do tipo I) e as fibras de colágeno mais finas e dispersas (colágeno do tipo III). Quanto às imagens, foram capturados 8 campos por lâmina com aumento de 10x, utilizando apenas a lente de luz polarizada. Para as análises também foi utilizado o software *ImageJ*, onde foi observado a quantidade de colágeno no tecido a partir do reconhecimento do software pela concentração de cor (tipo I em vermelho) e ( tipo III em verde). A soma das duas áreas corresponde a área total de colágeno que é dada em porcentagem pelo programa (Figuras 13 e 14).

Figura 13

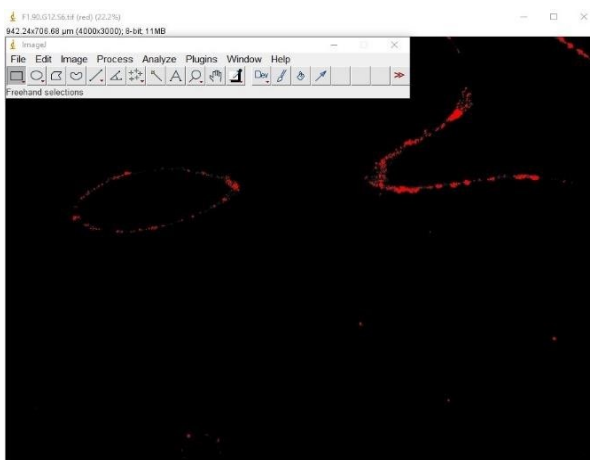
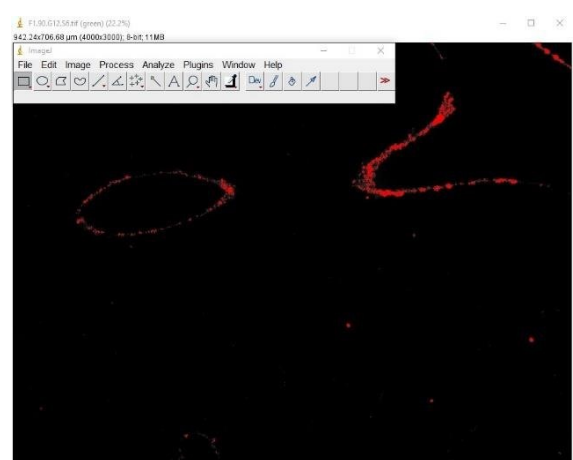


Figura 14



Fonte: Nathanny Hipólito (2022)

#### 4.4 Análise Estatística

Foi utilizado o programa *GraphPad Prism Version 5.00 (Trial)* a análise estatística. Os dados obtidos foram analisados primeiramente pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, quanto a ocorrência ou não de uma distribuição normal (Gaussiana). Quando os dados apresentaram uma distribuição normal, foi utilizado um teste paramétrico, caso contrário, foi utilizado um teste não-paramétrico. O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ .

Os testes utilizados para análise de cada parâmetro constam nas legendas dos gráficos na seção Resultados.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Dados maternos

Não houve alterações do ganho de peso corporal e glicemia durante a gestação das mães dos 3 grupos estudados. No entanto, o consumo de ração foi menor nos grupos F e S, em relação aos controles, enquanto o consumo líquido foi maior no grupo S, quando comparado aos grupos C e F (Tabela 1).

**Tabela 1. Dados maternos durante a gestação dos grupos C, F e S.**

Parâmetros	Grupo C	Grupo F	Grupo S
Peso materno	93,46±9,61	104,20±7,18	117,50±6,86
Glicemia	83,35±3,15	88,71±0,29	86,50±3,30
Consumo de ração	23,39±1,81	16,26±0,89**C	15,77±0,87**C
Consumo de líquidos	74,56±1,97	83,70±8,67	108,70±5,43**C*F

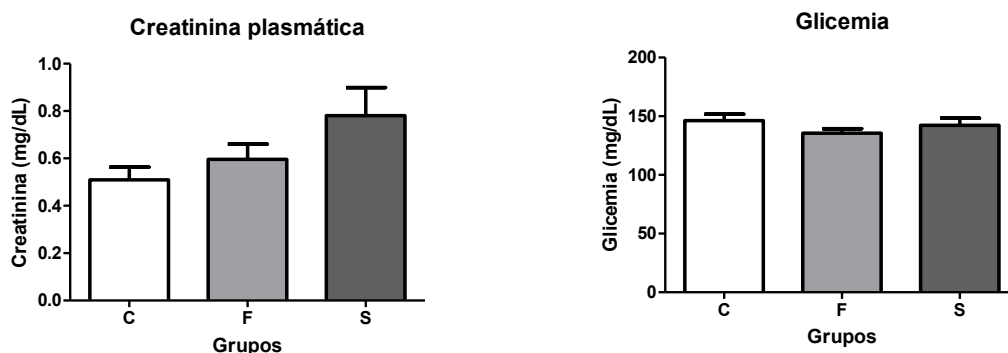
Peso materno, glicemia, ingestão de ração e líquida das mães dos grupos C (n=10), F (n=12) e S (n=10): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média ± EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\*C:  $p < 0,01$  versus grupo Controle; \*F:  $p < 0,05$  versus grupo Frutose.

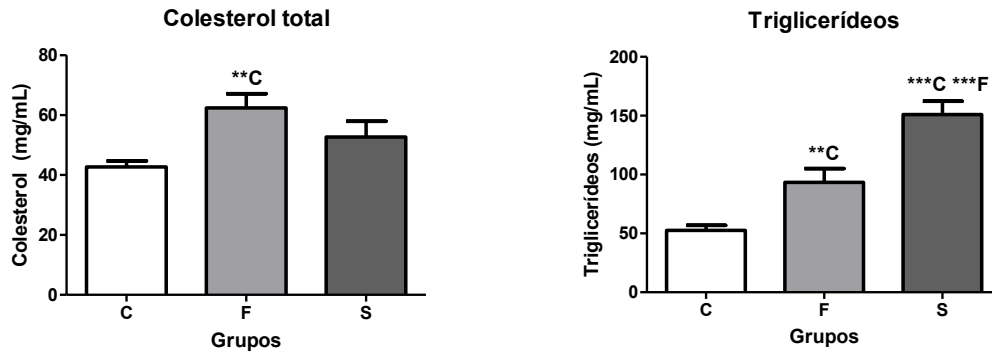
### 5.2 Dados da prole

#### 5.2.1 Glicemia, Creatinina plasmática, Colesterol Total e Triglicerídeos

A creatinina plasmática e a glicemia dos filhotes fêmeas de 90 dias não foram diferentes entre os grupos estudados, mas os níveis plasmáticos de colesterol total foram maiores no grupo F, em comparação ao grupo C. Já os níveis de triglicerídeos foram maiores nos 2 grupos experimentais (F e S), quando comparados aos controles, e diferentes entre si, com maiores taxas no grupo S (Gráfico 1).

**Gráfico 1. Dados metabólicos dos filhotes de 90 dias dos grupos C, F e S.**



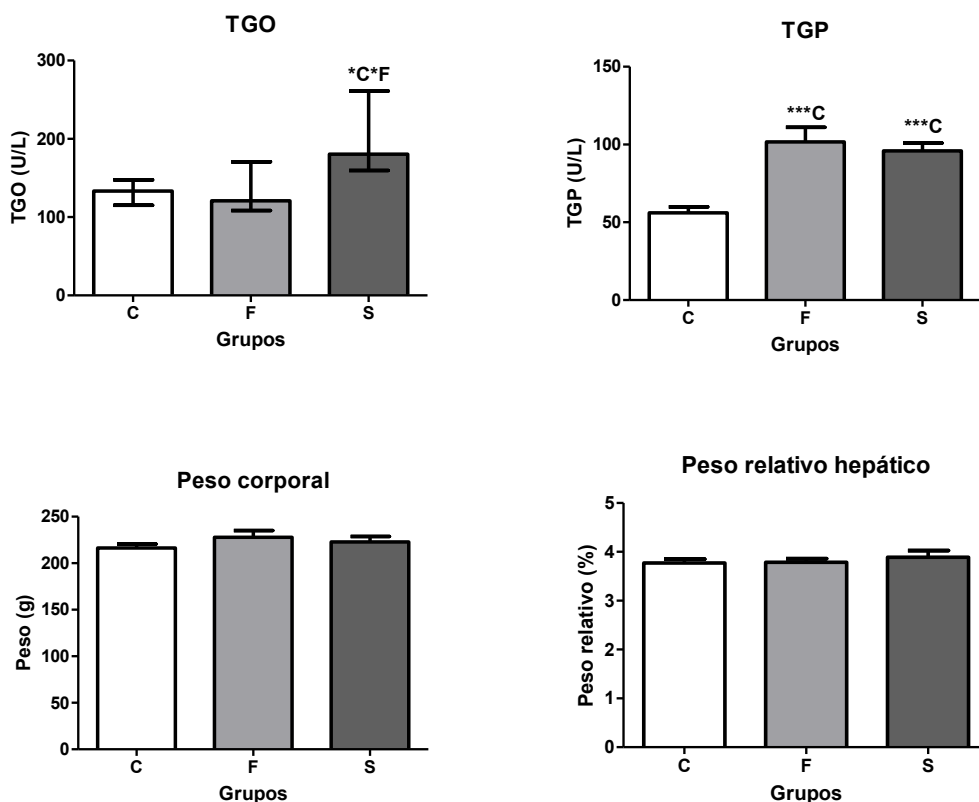


Creatinina plasmática, glicemia, colesterol total e triglicerídeos dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=8), F (n=8) e S (n=7): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média  $\pm$  EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\*\*C:  $p < 0,001$  versus grupo Controle; \*\*C:  $p < 0,01$  versus grupo Controle; \*\*\*F:  $p < 0,001$  versus grupo Frutose.

### 5.2.2 Atividade de enzimas hepáticas, ganho de peso corporal e peso relativo hepático

A atividade de enzimas hepáticas foi dosada nos filhotes de 90 dias, de forma que a TGO foi maior no grupo S, quando comparados aos demais grupos, enquanto a TGP foi maior nos grupos experimentais (F e S), em relação ao grupo C. Já os parâmetros peso corporal e peso relativo hepático não foram diferentes entre os grupos (**Gráfico 2**).

**Gráfico 2. Dados de atividade de enzimas hepáticas, peso corporal e peso relativo hepático dos filhotes de 90 dias dos grupos C, F e S**

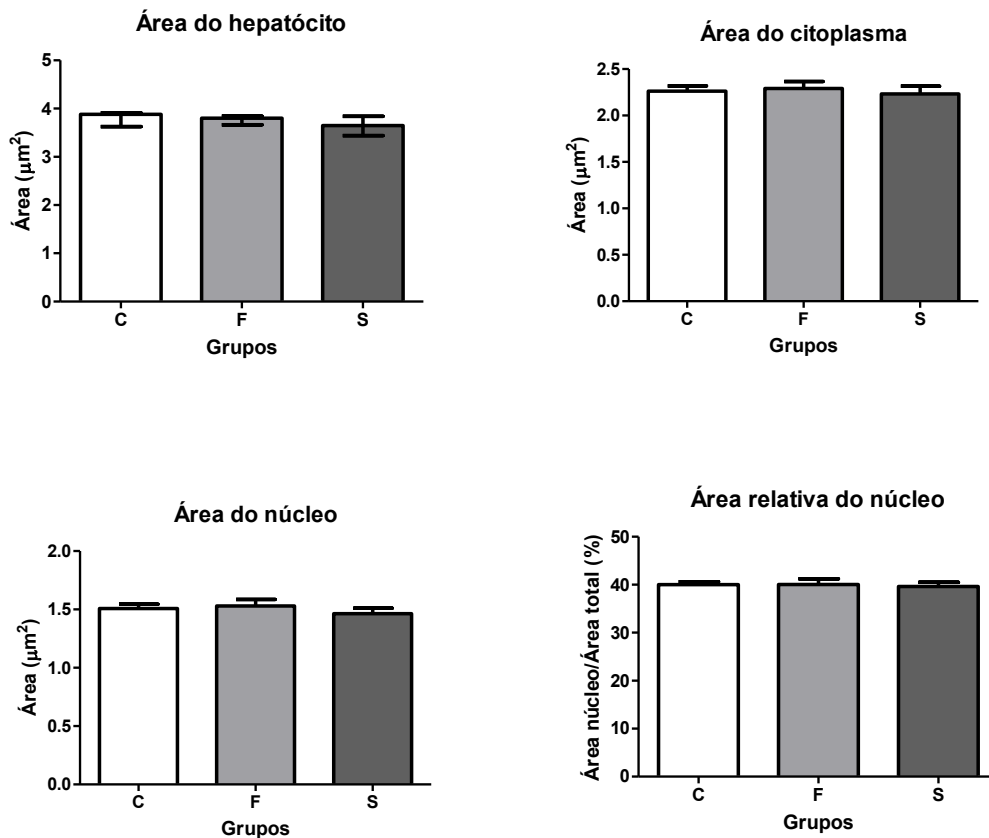


TGO dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=8), F (n=8) e S (n=7): Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os valores representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. TGP, peso corporal e peso relativo hepático dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=8), F (n=8) e S (n=7): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média  $\pm$  EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\*\*C:  $p < 0,001$  versus grupo Controle; \*C:  $p < 0,05$  versus grupo Controle; \*F:  $p < 0,05$  versus grupo Frutose.

### 5.2.3 Dados morfométricos hepáticos

Dados morfométricos hepáticos foram avaliados nos filhotes de 90 dias, mas não houve diferença entre os grupos para as áreas do hepatócito, do citoplasma, do núcleo e relativa do núcleo (Gráfico 3).

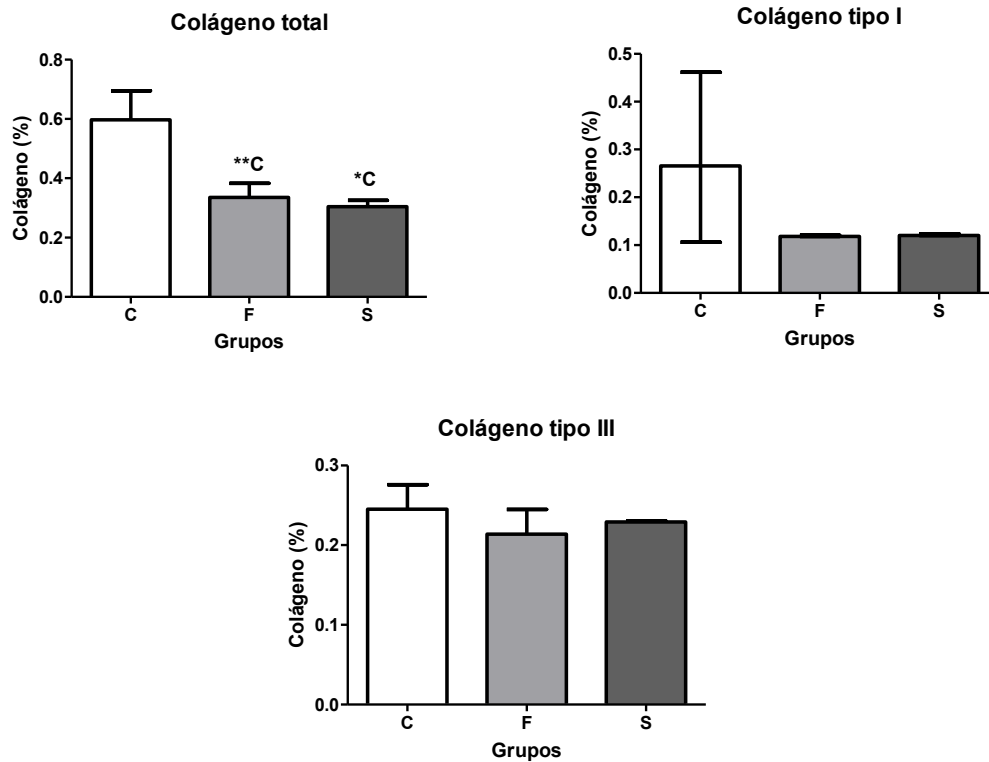
Gráfico 3. Dados morfométricos hepáticos dos filhotes de 90 dias dos grupos C, F e S.



Área do hepatócito dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=8), F (n=8) e S (n=7): Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os valores representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. Áreas do citoplasma, do núcleo e relativa do núcleo dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=8), F (n=8) e S (n=7): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média  $\pm$  EPM. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

Quanto a análise de colágeno hepático, apesar do colágeno total ter sido menor nos grupos experimentais (F e S), em comparação ao grupo C, os colágenos tipos I e III não foram diferentes entre os grupos estudados. **(Gráfico 4)**

**Gráfico 4. Análise do colágeno total e colágenos tipo I e III dos filhotes de 90 dias dos grupos C, F e S.**



Colágeno total e colágeno tipo III hepático de filhotes de 90 dias dos grupos dos grupos C (n=8), F (n=8) e S (n=7): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média  $\pm$  EPM. Colágeno cortical tipo I hepático dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=8), F (n=8) e S (n=7): Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . \*\*C:  $p < 0,01$  versus Controle; \*C:  $p < 0,05$  versus Controle.

## 6. DISCUSSÃO

Distúrbios metabólicos que se manifestam na vida adulta podem ter suas raízes antes do nascimento. As mudanças ambientais (como uma dieta não adequada durante o período gestacional) podem redefinir o caminho do desenvolvimento fetal durante sua evolução no ambiente intrauterino, levando à processos patológicos mais tarde na vida, não baseada em defeitos genéticos, mas na expressão genética alterada como consequência de uma adaptação a tais mudanças ocorridas ao longo da gestação e/ou lactação (BREIER, 2001).

O fígado é um órgão complexo quando se trata de metabolização, por contribuir de diversas formas para que tal processo ocorra. Os hepatócitos são as células que realizam as funções metabólicas do fígado, como: regulação da homeostase dos carboidratos, controle do metabolismo de colesterol, síntese de lipídios, produção de enzimas, entre outros. Desta forma, o presente estudo utilizou a dieta rica em carboidratos (sacarose e frutose a 20%), durante a gestação e lactação de ratas *Wistar*, como fator adverso para observar quais impactos metabólicos e hepáticos poderiam ser causados à prole adulta.

No que diz respeito aos dados maternos, foi observado que houve um menor consumo de ração pelos grupos experimentais em relação ao grupo C, enquanto a ingestão líquida foi maior apenas no grupo S. Um estudo de Sheludiakova e colaboradores (2012) mostrou que animais com acesso livre a bebidas adoçadas (sacarose e frutose a 10%) consumiram 20% mais líquido do que ração, quando comparados ao grupo controle. Tais dados demonstram que dada uma oferta maior de calorias contida nas soluções ricas em carboidratos (frutose e sacarose), certamente os animais compensam parcialmente as calorias obtidas das bebidas, reduzindo a ingestão de ração, visto que as necessidades energéticas dos animais já haviam sido supridas.

Embora tenham ocorrido estas variações, a glicemia e o ganho de peso corporal maternos não foram diferentes entre os grupos. Um estudo de Bravo e colaboradores (2013) avaliou 64 indivíduos (homens e mulheres) por 10 semanas, que consumiram (1 de 3 níveis) de leite desnatado adoçado com xarope de milho rico em frutose ou sacarose e observaram que houve um aumento na massa corporal e que apenas um grupo ganhou peso (concentração nível a 30%), notaram também que a circunferência da cintura, o percentual de gordura corporal e a massa gorda não aumentaram, apesar de se tratar de um estudo com humanos.

No presente trabalho, a creatinina e a glicemia da prole não foram diferentes entre os grupos, porém, os níveis de colesterol total foram maiores no grupo F e os níveis de triglicérides foram maiores nos dois grupos estudados (F e S) e diferentes entre si, com maior incidência no grupo S em comparação ao grupo C. Ao contrário do que foi relatado por Virgen-Carrillo e colaboradores (2021), em um estudo utilizando ratos *Wistar* machos expostos a 3 condições de dietas *ad libitum* (solução de sacarose, solução de mel e solução de frutose/glicose a 30%) ao longo

de 14 semanas, que constataram uma alta glicemia para o grupo sacarose e frutose, enquanto os valores de colesterol total e triglicerídeos foram menores nos mesmos grupos em relação ao grupo controle. Essa diferença de dados entre os estudos pode ser explicada pela metodologia adotada em cada um deles, visto que o estudo de Virgen-Carrillo adotou uma maior concentração das soluções (30%), além da utilização de animais de sexos diferentes e maior tempo de exposição às soluções propostas.

Quando se refere às enzimas hepáticas, destacam-se as transaminases, principalmente alanina aminotransferase (ALT também conhecida como TGP) e aspartato aminotransferase (AST ou TGO). São enzimas agregadas no citosol dos hepatócitos e normalmente detectáveis no soro em baixas concentrações, no entanto, qualquer processo que leve à perda da integridade da membrana do hepatócito ou necrose resulta na liberação de TGP e TGO em concentrações mais altas no soro (MORILES, 2022). Neste estudo, os níveis de TGO foram maiores no grupo S, quando comparados aos demais grupos, enquanto a TGP foi maior nos grupos experimentais (F e S), em relação ao grupo C. Já o peso corporal e peso relativo hepático da prole de 90 dias não tiveram diferenças entre os grupos.

Um trabalho realizado por Carapeto e colaboradores (2018), avaliou as consequências do consumo de uma dieta rica em frutose (45%) pela mãe, pai ou ambos na prole masculina adulta de animais C57BL/6 após 8 semanas de consumo. Os autores constataram que os pais tratados com frutose apresentaram pressão arterial elevada, fígado aumentado, hipercolesterolemia e outros fatores. A prole apresentou pressão arterial elevada, níveis elevados de ácido úrico e leptina, diminuição da adiponectina e inflamação hepática. Concluindo dessa forma, que o consumo de frutose pela mãe e/ou pai está associado a efeitos adversos no metabolismo hepático na prole masculina adulta. Outro estudo realizado por Schultz e colaboradores (2015), utilizando dietas ricas em frutose (50%) sacarose (50%) e amido de milho (76%), durante 15 semanas em camundongos machos, obtiveram resultados semelhantes ao trabalho de Carapeto e colaboradores, acrescentando aos efeitos acarretados: hiperglicemia, hiperinsulinemia e aumento das enzimas hepáticas, sendo esse último dado semelhante ao apresentado no presente trabalho.

Quanto à morfometria hepática, não houve diferença entre os grupos para as áreas do hepatócito, do citoplasma, do núcleo e relativa do núcleo quando comparado ao grupo C, mas quanto à deposição de colágeno, apesar de ter sido menor nos grupos experimentais (F e S), em comparação ao grupo C, os colágenos tipos I e III não foram diferentes entre os grupos estudados. Em um estudo realizado por Chen e colaboradores (2019), foram administradas para diferentes grupos de ratos *Wistar* machos por 4 semanas, dietas a base de Glicose, Frutose, D-Psicose e Celulose (todas a 5%). Eles observaram que a morfologia das células hepáticas em relação à administração da dieta com D-Psicose apresentava-se sem anormalidades, contudo, a relação da

mesma análise nos grupos glicose e frutose não mostrava delimitações evidentes entre os hepatócitos. Outro estudo realizado por Balakumar e colaboradores (2016) obtiveram outros resultados, também utilizando ratos *Wistar* machos, no entanto, fazendo uso de dieta granulada nos grupos: frutose (65%), dieta rica em gordura (50%) e frutose + dieta rica em gordura (65%-50%) durante 4 meses. Foi observado esteatose macrovesicular sem infiltração de células inflamatórias no grupo frutose; hepatócitos mostrando rarefação citoplasmática e poucos focos de esteatose macrovesicular sem infiltração de células inflamatórias no grupo que recebeu apenas dieta rica em gordura; e hepatócitos com rarefação citoplasmática, esteatose microvesicular e infiltração de células inflamatórias no grupo frutose + dieta rica em gordura. No mesmo estudo, foi constatado colágeno na região perissinusoidal nos grupos experimentais em comparação aos controles.



## 7. CONCLUSÃO

O consumo de dieta rica em carboidratos durante a gestação e lactação de ratas *Wistar*, resultou em aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol total e na atividade das enzimas hepáticas TGO e TGP na prole de 90 dias. Além disso, o tipo de carboidrato (sacarose) interferiu nos parâmetros triglicerídeos plasmáticos e atividade da TGO.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, M.M. **Fisiologia**: 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

ALFARADHI, Maria Z. et al. Oxidative stress and altered lipid homeostasis in the programming of offspring fatty liver by maternal obesity. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 307, n. 1, p. R26-R34, 2014.

ANDERSEN, Stine Linding; ANDERSEN, Stig. Hyperthyroidism in pregnancy: evidence and hypothesis in fetal programming and development. **Endocrine Connections**, v. 10, n. 2, p. R77-R86, 2021.

BALLEN, Marcia LO et al. Protein restriction in pregnancy: effects related to dam metabolism. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 1, p. 87-94, 2009.

BALAKUMAR, M. et al. High-fructose diet is as detrimental as high-fat diet in the induction of insulin resistance and diabetes mediated by hepatic/pancreatic endoplasmic reticulum (ER) stress. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 423, n. 1, p. 93-104, 2016.

BIANCO, Monica E.; JOSEFSON, Jami L. Hyperglycemia during pregnancy and long-term offspring outcomes. **Current diabetes reports**, v. 19, n. 12, p. 1-8, 2019.

BRAVO, Stephen et al. Consumption of sucrose and high-fructose corn syrup does not increase liver fat or ectopic fat deposition in muscles. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 6, p. 681-688, 2013.

BREIER, B. H. et al. Fetal programming of appetite and obesity. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 185, n. 1-2, p. 73-79, 2001.

CARAPETO, P. V. et al. Liver metabolism in adult male mice offspring: Consequences of a maternal, paternal or both maternal and paternal high-fructose diet. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 9, n. 4, p. 450-459, 2018.

CARDENAS-PEREZ, Robbi E. et al. Maternal overnutrition by hypercaloric diets programs hypothalamic mitochondrial fusion and metabolic dysfunction in rat male offspring. **Nutrition & metabolism**, v. 15, n. 1, p. 1-16, 2018.

CHEN, Jingjing et al. Anti-obesity potential of rare sugar d-psicose by regulating lipid metabolism in rats. **Food & function**, v. 10, n. 5, p. 2417-2425, 2019.

DE FREITAS, Elisângela da Silva et al. Recomendações nutricionais na gestação. **Revista destaques acadêmicos**, v. 2, n. 3, 2011.

EMING, Sabine A.; WYNN, Thomas A.; MARTIN, Paul. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. **Science**, v. 356, n. 6342, p. 1026-1030, 2017.

KISIOGLU, Betul; NERGIZ-UNAL, Reyhan. Potential effect of maternal dietary sucrose or fructose syrup on CD36, leptin, and ghrelin-mediated fetal programming of obesity. **Nutritional neuroscience**, v. 23, n. 3, p. 210-220, 2020.

KOGURE, Kimitaka et al. A comparative study of the anatomy of rat and human livers. **Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery**, v. 6, n. 2, p. 171-175, 1999.

MONTES, G. S.; JUNQUEIRA, L. C. U. The use of the Picosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 1- 11, 1991.

MOORE, KEITH L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, MARK G. **Embriologia Clínica**. 10ª edição. 2016.

MORILES, Kevin E.; AZER, Samy A. Alanine amino transferase. **StatPearls [Internet]**, 2022.

MORRISON, Janna L.; REGNAULT, Timothy RH. Nutrition in pregnancy: optimising maternal diet and fetal adaptations to altered nutrient supply. **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 342, 2016.

MOUSA, Aya; NAQASH, Amreen; LIM, Siew. Macronutrient and micronutrient intake during pregnancy: an overview of recent evidence. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 443, 2019.

NAZARI, Evelise Maria. **Embriologia humana** / Evelise Maria Nazari e Yara Maria Rauh Müller. – Florianópolis: BIOLOGIA/EAD/UFSC, 2011.

- ODHIAMBO, John F. et al. A Review of Maternal Nutrition during Pregnancy and Impact on the Offspring through Development: Evidence from Animal Models of Over-and Undernutrition. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 18, p. 6926, 2020.
- OERTEL, Michael et al. Cell competition leads to a high level of normal liver reconstitution by transplanted fetal liver stem/progenitor cells. **Gastroenterology**, v. 130, n. 2, p. 507-520, 2006.
- RICH, L.; WHITTAKER, P. Collagen and picrosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. **Journal of morphological sciences**, v. 22, n. 2, p. 0-0, 2005.
- SCHULTZ, Alini et al. Differences and similarities in hepatic lipogenesis, gluconeogenesis and oxidative imbalance in mice fed diets rich in fructose or sucrose. **Food & function**, v. 6, n. 5, p. 1684-1691, 2015.
- SHAPIRO, Allison LB et al. Exposure to maternal diabetes in utero and offspring eating behavior: The EPOCH study. **Appetite**, v. 116, p. 610-615, 2017.
- SHELUDIAKOVA, Anastasia; ROONEY, Kieron; BOAKES, Robert A. Metabolic and behavioural effects of sucrose and fructose/glucose drinks in the rat. **European journal of nutrition**, v. 51, n. 4, p. 445-454, 2012.
- STEVENSON, Kerrie; LILLYCROP, Karen A.; SILVER, Matt J. Fetal programming and epigenetics. **Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research**, v. 13, p. 1-6, 2020.
- TORTORA, Gerard J .; DERRICKSON, Bryan H. **Princípios de anatomia e fisiologia** . John Wiley & Sons, 2018.
- VAZ, DIANA SOUZA SANTOS; BENNEMANN, ROSE MARI. Comportamento alimentar e hábito alimentar: uma revisão. **Uningá Review**, v. 20, n. 1, 2014.
- VIRGEN-CARRILLO, Carmen Alejandrina et al. Feeding pattern, biochemical, anthropometric and histological effects of prolonged ad libitum access to sucrose, honey and glucose-fructose solutions in Wistar rats. **Nutrition Research and Practice**, v. 15, n. 2, p. 187-202, 2021.

ZUPANIČ, Nina et al. Total and free sugars consumption in a Slovenian population representative sample. **Nutrients**, v. 12, n. 6, p. 1729, 2020.

## ANEXO I



Universidade Federal de Uberlândia  
– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



## CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Consequências renais e gastrointestinais na prole de ratas Wistar expostas a dietas ricas em carboidratos durante a gestação e lactação: efeitos do tratamento materno com resveratrol.”, protocolo nº 015/19, sob a responsabilidade de **Ana Paula Coelho Balbi** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – 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 da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião **28 de Junho de 2019**.

(We certify that the project entitled “Consequências renais e gastrointestinais na prole de ratas Wistar expostas a dietas ricas em carboidratos durante a gestação e lactação: efeitos do tratamento materno com resveratrol.”, protocol 015/19, under the responsibility of **Ana Paula Coelho Balbi** - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of June 28th, 2019).

Vigência do Projeto	Início: 12/08/2019 Término: 12/08/2022
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Rato heterogênico Wistar
Número de animais	50 Adultos 400 Filhotes
Peso / Idade	180g – 300g/ Adulto Filhotes – 1 dia – 7 dias – 30 dias – 90 dias
Sexo	Macho e Fêmea
Origem / Local	Rede de Biotérios de Roedores da UFU – REBIR-UFU
Local onde serão mantidos os animais:	Rede de Biotérios de Roedores da UFU – REBIR-UFU

Uberlândia, 01 de Julho de 2019.

  
**Prof. Dr. Lucio Vilela Carneiro Girão**  
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
 Comissão de Ética na Utilização de Animais /UFU  
 Coordenador da CEUA  
 Portaria Nº 542 DE 10 DE MAIO DE 2019