



ALENCAR GERALDO LOPES

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM
ÓLEO DE PEIXE FRENTE AO ESTRESSE OXIDATIVO
HEPÁTICO EM CAMUNDONGOS HIPERALIMENTADOS
APÓS O NASCIMENTO**

LAVRAS - MG

2021

ALENCAR GERALDO LOPES

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM ÓLEO DE PEIXE
FRENTE AO ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO EM CAMUNDONGOS
HIPERALIMENTADOS APÓS O NASCIMENTO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal de Lavras, formatado de acordo com as normas da Revista da Associação Brasileira da Nutrição – Rasbran, como parte das exigências do Curso de Nutrição, para obtenção do título de Bacharel.

Prof^a. Dra. Laura Cristina Jardim Pôrto Pimenta

Orientadora

M^a. Brenda Loise Monteiro

Coorientadora

LAVRAS - MG

2021

Efeito da suplementação materna com óleo de peixe frente ao estresse oxidativo hepático em camundongos hiperalimentados após o nascimento

Effect of maternal supplementation with fish oil against the oxidative stress in liver hyper-fed mice after birth

Resumo

A programação metabólica se refere a eventos ocorridos durante a gestação e a lactação, onde aspectos nutricionais, hormonais e fisiológicas podem prevenir ou predispor disfunções metabólicas na vida adulta. O ômega-3, apresenta potencial atenuante dessas desordens metabólicas devido suas ações anti-inflamatória e antioxidante. Objetivou-se neste trabalho averiguar se a suplementação materna com óleo de peixe possui ação protetora contra o estresse oxidativo hepático em modelo de hiperalimentação pós-natal. Fêmeas C57Bl6 foram suplementadas, com óleo de peixe ou água entre os períodos de acasalamento e desmame. Após 21 dias de vida da prole foi realizado o desmame e os filhotes machos foram remanejados em grupos controle (C) e controle com óleo de peixe (COP); hiperalimentado (H) e hiperalimentado com óleo de peixe (HOP), tendo o peso corporal e o consumo alimentar aferidos semanalmente. Após 120 dias de vida e jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados e posteriormente eutanasiados. Coletou-se o fígado e o tecido adiposo epididimal, sendo corrigidos pelo peso corporal dos animais e armazenados em -20° C. Para a avaliação do estresse oxidativo hepático foram realizadas as dosagens de TBARS, hidroperóxidos e as enzimas superóxido dismutase e catalase. Os resultados foram submetidos aos testes de Grubbs, Shapiro-Wilk, ANOVA OneWay e Bonferroni. Verificou-se que, a hiperalimentação aumentou a concentração de hidroperóxidos e TBARS, contudo, a suplementação materna com óleo de peixe melhorou a atividade da enzima antioxidante catalase e atenuou os marcadores de estresse oxidativo, exercendo, portanto, efeito protetor contra o estresse oxidativo hepático na prole hiperalimentada.

Palavras-chave: Espécies Reativas de Oxigênio. Programação Metabólica. Ômega 3.

Abstract

Metabolic programming refers to events that occur during pregnancy and lactation, where nutritional, hormonal, and physiological aspects can prevent or predispose metabolic disorders in adulthood. Omega-3 has a mitigating potential for these metabolic disorders due to its anti-inflammatory and antioxidant actions. The aim of this study was to investigate whether maternal supplementation with fish oil has a protective action against hepatic oxidative stress in a postnatal hyperalimentation model. C57Bl6 females were supplemented with fish oil or water between the mating and weaning periods. After 21 days of life the offspring were weaned and the male offspring were relocated in control (C) and fish oil control (COP) groups; overfed (H) and overfed with fish oil (HOP), with body weight and food consumption measured weekly. After 120 days of life and fasting for 12 hours, the animals were anesthetized and then euthanized. The liver and the epididymal adipose tissue were collected, being corrected by the animals' body weight, and stored at -20°C. For the assessment of hepatic oxidative stress, TBARS,

hydroperoxides and superoxide dismutase and catalase enzymes were measured. The results were submitted to the Grubbs, Shapiro-Wilk, ANOVA OneWay and Bonferroni tests. It was found that hyperalimentation increased the concentration of hydroperoxides and TBARS, however, maternal supplementation with fish oil improved the activity of the antioxidant enzyme catalase and attenuated the oxidative stress markers, thus exercising a protective effect against liver oxidative stress. in hyper-fed offspring.

Keywords: *Reactive Oxygen Species. Metabolic Programming. Omega 3.*

1 INTRODUÇÃO

Entende-se por estresse oxidativo o desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, com capacidade de gerar danos celulares e teciduais. Os danos oxidativos são provocados pelas Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). Essas, induzem danos de caráter oxidativo nas bases de DNA, que por sua vez, podem acarretar oxidação direta e/ou quebra dos ácidos nucleicos¹. As principais moléculas afetadas pelos EROs são o DNA, lipídios, proteínas e açúcares. A molécula afetada depende de fatores como a localização e natureza da espécie reativa, assim como, a capacidade de uma biomolécula ser oxidada e a disposição de íons metálicos agregados a mesma².

A via aeróbica relacionada ao metabolismo se vale de reações de oxidação, portanto, as EROS podem ser produzidas naturalmente ou resultantes de algum distúrbio biológico. É pertinente dizer que embora patológicos e pró-inflamatórios, causadores e agravadores de doenças como câncer, hipertensão, diabetes, esteatose hepática, aterosclerose, pulmonares, cardiovasculares, neurodegenerativas, sarcopenia entre outras, os radicais livres são também fisiológicos e necessários em meio a bioquímica energética do corpo humano para a formação dos mais variados produtos, como eventos de fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de moléculas. Contudo, a demasia desses leva a lipoperoxidação de membranas, oxidação de proteínas e morte celular³.

Em relação à defesa antioxidante, há o sistema antioxidante enzimático e o não enzimático. O sistema antioxidante enzimático é composto por enzimas e protetores endógenos como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase, enquanto no sistema antioxidante não enzimático a defesa é composta por elementos externos advindos da alimentação como, por exemplo, as vitaminas A, C, E, os carotenóides e compostos fenólicos, entre outros².

A programação metabólica se refere a eventos ocorridos nas fases críticas do desenvolvimento, como a gestação e a lactação, onde alterações nutricionais e/ou hormonais podem influenciar aspectos fisiológicos durante a infância e/ou vida adulta, por meio de mecanismos epigenéticos, predispondo ou prevenindo o desenvolvimento de doenças⁴. A gestação e lactação são fases da vida onde o organismo se encontra em grandes taxas de proliferação, diferenciação e crescimento celular, portanto, mais suscetível às interferências ambientais⁵. Desta forma, é possível que intervenções nutricionais possam modular respostas fisiológicas e contribuir para a atenuação de desordens orgânicas.

Os ácidos graxos ômega 3 apresentam estrutura poli-insaturada e são considerados essenciais devido ao organismo não ser capaz de produzi-los em virtude da ausência das enzimas desaturases $\Delta 12$ e $\Delta 15$ responsáveis pela inserção, respectivamente de insaturação entre os carbonos 3-4 e 6-7, e, portanto, devem ser adquiridos através da alimentação⁶. O ômega 3 presente do óleo de peixe contém os ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA). Ao EPA é atribuída capacidade anti-inflamatória devido sua participação na produção de prostaglandinas E3, enquanto o DHA carrega atributos de neuroprotetor por melhorar a saúde neuronal e a capacidade cognitiva. Portanto, ambos são relevantes ao combate do estresse oxidativo, seja pela ação antioxidante direta ou indireta através do combate à inflamação, logo são também indicados na terapêutica das síndromes metabólicas⁷.

Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo averiguar os efeitos da suplementação materna com óleo de peixe frente o estresse oxidativo hepático em camundongos hiperalimentados no período pós-natal.

2 MÉTODO

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição (DNU/UFLA), respeitando os princípios éticos de manejo experimental com animais, aprovado pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA) no protocolo 002/2018. Inicialmente foram utilizados quarenta camundongos (C57Bl6) obtidos no biotério central da UFLA, sendo dez machos e trinta fêmeas, com idade variável entre 45-55 dias, e peso médio de 20g. Durante todo o experimento, variáveis ambientais foram controladas, isso inclui temperatura mantida entre 20 a 24 °C e ciclo

claro/escuro (12/12 horas). Os animais tinham livre acesso ao consumo de água e ração comercial padrão durante o desenvolvimento do experimento.

Para um período de adaptação, as fêmeas foram colocadas em grupos de três por caixa por um período de quinze dias. Em seguida, acrescentou-se um macho ao ambiente, mantendo-o por dez dias para acasalamento e, posteriormente, os machos foram removidos. As fêmeas foram previamente divididas em dois grupos que foram suplementados com água ou óleo de peixe (1g/Kg/dia) desde o período de acasalamento até o desmame dos filhotes. O óleo de peixe (OP) utilizado foi gentilmente doado pela Fundação Herbarium (Curitiba, PR, Brasil) apresentando concentrações de 0,120g de EPA e 0,300g de DHA por cápsulas de 0,828 g.

Dois dias após o nascimento, as ninhadas foram remanejadas para a formação dos grupos: Controle (C) e Controle com óleo de peixe (COP) que portavam cerca de 8 a 10 filhotes; hiperalimentação pós-natal (H) e hiperalimentação pós-natal com óleo de peixe (HOP) com ninhadas reduzidas de 3 a 4 filhotes. Os animais H e HOP foram hiperalimentados somente no período de lactação, após o desmame todos receberam alimentação devidamente equilibrada.

Analisou-se semanalmente a ingestão alimentar e o peso corporal dos animais. Aos 120 dias de vida, após jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de uma mistura de PBS, cetamina (80 mg/kg) e xilazina (10mg/kg), e eutanasiados por exsanguinação cardíaca. O tecido adiposo epididimal e o fígado foram coletados, pesados e posteriormente armazenados em -20°C.

Para avaliação dos marcadores de estresse oxidativo hepático, foi preparado um homogenato com as amostras de fígado armazenadas. Para tanto, as amostras contendo 100 mg do tecido hepático foram descongeladas em microtubos. Ao microtubo de capacidade de 2ml foi acrescentado 1ml de PBS-10 mM (Phosphate Buffered Saline) a trituração e homogeneização ocorreu no homogeneizador Ultra Stirrer durante cerca de 1 minuto. As alíquotas de sobrenadante foram obtidas após centrifugação a 12000 rpm por 10 minutos, sendo em seguida, armazenadas e resfriadas em freezer em temperatura de -20° C após serem fracionadas.

A peroxidação lipídica foi medida pela reatividade dos produtos da quebra ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Essa análise e mensuração foi feita em microplacas de acordo com Buege e Aust (1978)⁸. O homogenato de volume 250µL comum em todas as amostras foram passados para microtubos e somado as soluções de ácido tricloroacético (TCA 15%) de 500µL, ácido tiobarbitúrico (TBA 0,0375%) e ácido clorídrico

(HCL 0.25 N). A mistura foi colocada durante 15 minutos em banho-maria e resfriada em água corrente. Logo, foi adicionado 1ml de álcool butílico e os tubos intensamente agitados no vórtex. Posteriormente foi realizada uma centrifugação por 10 minutos à 6000 rpm e o sobrenadante foi recolhido e plaqueado em triplicata, a leitura foi então feita a 505 nm. A normalização dos resultados foi feita pela medida proteica através da técnica de Bradford (1976)⁹.

A dosagem da concentração de hidroperóxidos foi analisada em microplacas após os homogenatos terem sido centrifugados a 12000 rpm durante 5 minutos e o sobrenadante separado e alocado para as microplacas. O teste carece da solução FOX-2, obtida através da dissolução de parcela da solução FOX no metanol grau-HPLC que contém 4,4mM de BHT, considerando o uso de nove partes desse álcool. A solução FOX é feita a partir de dissolução do Xilenol Orange e do sulfato ferroso amoniacal em 250 mM de H₂SO₄, a concentração final buscada era respectivamente de 1 a 2,5mM.

Por conseguinte, retirou-se então 20µL do sobrenadante acrescentando a esse 180µL para FOX-2 nas microplacas em triplicata. O processo de preparo do branco requereu 20µL de água MiliQ em substituição do homogenato. A absorbância foi lida por leitor de microplaca, após estas terem descansado em temperatura ambiente durante 30 minutos. Por fim, a técnica de Bradford⁹ foi novamente usada para a dosagem de proteínas.

Para a dosagem da concentração de SOD, foi requerido 30µL de homogenato em PBS plaqueados em microplacas e esse somado a 99µL de tampão fosfato, 6µL de brometo de dimetiltiazol-difeniltetrazolium (MTT) e por último a 15µL de pirogalol. O branco foi produzido pela substituição do pirogalol por PBS, esse para padrão foi substituído da amostra. Em sequência, a solução foi incubada a 37 °C por 5 minutos e a reação interrompida com 150µL de dimetil sulfóxido (DMSO) e a absorbância foi lida em 550nm. Considerou-se para o resultado que 1 unidade (U) de SOD é capacitada a inibir a auto oxidação de 50% do pirogalol de padrão. O resultado é normalizado pela quantidade de proteínas determinadas através da técnica de Bradford (1976)⁹.

Para avaliação da atividade da enzima catalase foi necessário diluir o homogenato hepático em água MiliQ na proporção de 1:25. Foi acrescentado 1mL de tampão fosfato 50mM em uma cubeta de quartzo. Nesse recipiente foi colocado 50µL de solução de H₂O₂ a 0,3 M e a absorbância foi lida em 240nm, durante um minuto. A diferença entre as absorbâncias nos tempos final e inicial foi utilizada para a análise e o resultado foi corrigido pela quantidade de proteína determinada pela técnica de Bradford (1976)⁹.

As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism, versão 6.0¹⁰. Os dados foram apresentados em média +/- erro padrão da média. A detecção de outliers foi feita pelo teste Grubbs. Na análise da distribuição normal das variáveis, realizou-se pelo teste de Shapiro-Wilk. Ademais, realizou-se o teste de ANOVA One Way seguido do teste Bonferroni para a comparação entre os grupos. O nível de significância adotada foi de $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

A tabela 1 apresenta o peso corporal (PC) aos 21 e 120 dias de vida, consumo alimentar (CA) e o peso do tecido adiposo epididimal corrigido pelo peso corporal. Aos 21 dias, o grupo H apresentou maior peso corporal que o grupo C ($p < 0,001$), enquanto o grupo HOP exibia peso corporal menor que o grupo H ($p < 0,05$). Já aos 120 dias, o grupo H permaneceu com o peso corporal maior em relação ao grupo C ($p < 0,01$), contudo a distinção entre os grupos HOP e H não foi significativa ($p > 0,05$). Ao que diz respeito sobre o CA, os grupos experimentais exibiram comportamento semelhante durante todo o período avaliado. Em relação ao peso do tecido adiposo epididimal, o grupo H apresentou maior tecido em comparação com o grupo C ($p < 0,0001$), enquanto no grupo HOP não foram observadas diferenças em relação ao grupo H ($p > 0,05$).

Tabela 1. Peso corporal aos 21 e 120 dias, consumo alimentar e peso do tecido adiposo epididimal (TAE), corrigido pelo peso corporal, dos grupos experimentais: Controle (C) (n=8), Controle com Óleo de Peixe (COP) (n=11), Hiperalimentado (H) (n=8) e Hiperalimentado com Óleo de Peixe (HOP) (n=14).

	C	COP	H	HOP
PC 21 dias (g)	8.21±0.187	8.83±0.214	10.22±0.428***	9.01±0.217#
PC 120 dias (g)	24.73±0.21	25.95±0.59	26.13±0.330**	25.37±0.562
	8	8		
CA 1-3 semanas (g)	17.35±2.64	14.63±2.34	19.40±1.720	20.64±1.360
	5	2		
CA 4-6 semanas (g)	24.58±1.31	22.62±1.28	25.08±1.747	26.46±1.189
	5	7		
CA 7-9 semanas (g)	24.29±0.82	26.16±1.43	25.08±0.992	26.77±0.271
	9	9		
CA 10-13 semanas (g)	23.66±0.36	25.65±0.25	24.77±1.073	25.18±0.522
	4	7		
Peso do TAE (mg/g de peso corporal)	8.88±0.247	8.67±0.552	14.28±0.694***	13.03±0.390***
			*	#####

Dados apresentados como média ± erro padrão da média. PC: Peso corporal. CA: Consumo alimentar. H vs C (p <0,05) ** HOP vs H #####. * H vs C (p<0.05) ** H vs C (p<0.01) *** H vs C (p<0.001), **** H vs C (p<0.0001) ***** HOP vs COP (p<0.0001), # HOP vs H ##### HOP vs C (p<0.0001).

Em relação ao peso do fígado, o grupo H apresentou maior média em comparação com o grupo C (p<0,05), enquanto os demais grupos experimentais apresentaram valores semelhantes.

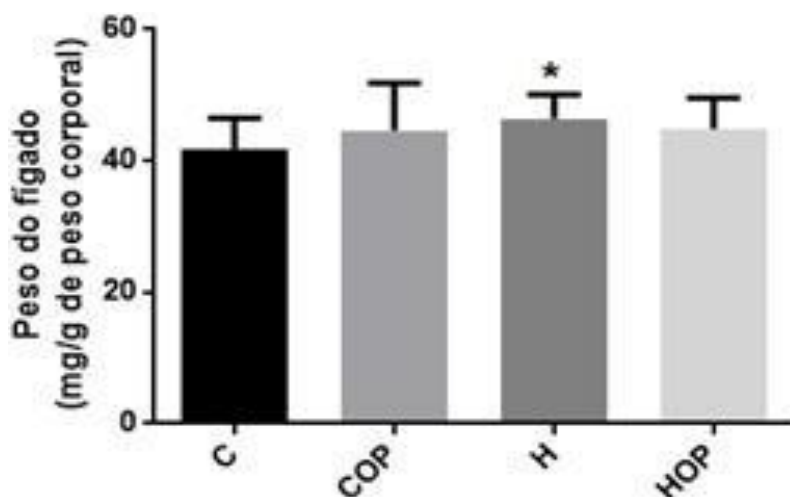


Figura 1 - Peso do fígado, corrigido pelo peso corporal, dos grupos experimentais: Controle (C) (n=8), Controle com Óleo de Peixe (COP) (n=11), Hiperalimentado (H) (n=8) e Hiperalimentado com Óleo de Peixe (HOP) (n=14). Onde: * (p<0,05) H vs C.

Por conseguinte, o grupo HOP demonstrou valores reduzidos para os marcadores de estresse oxidativo em comparação com os animais do grupo H. No que diz respeito aos hidroperóxidos, estes se apresentaram elevados no grupo H em confronto com o grupo C, não obstante, comparando-se HOP com H foi observado diminuição nos valores de hidroperóxidos (Figura 2B). Já no que diz respeito a concentração de MDA pela dosagem de TBARS, no grupo H foi mais elevada que no C, enquanto no grupo HOP os valores foram reduzidos em comparação com o H (Figura 2A).

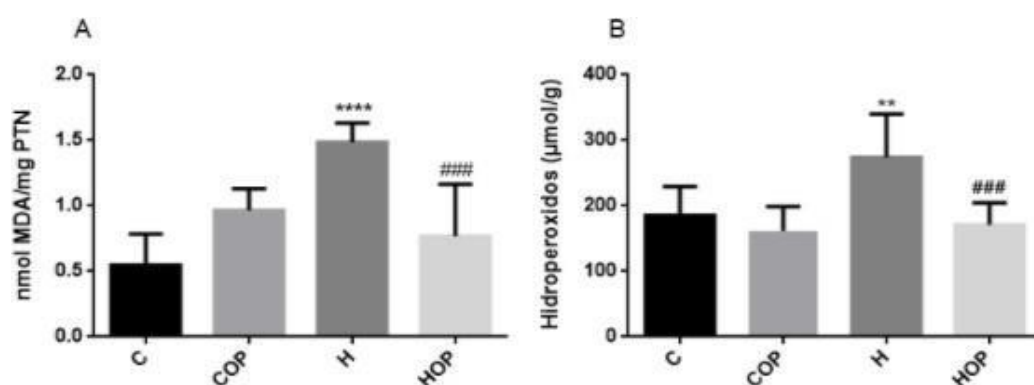


Figura 2 - Avaliação do estresse oxidativo, através da dosagem de TBARS, de acordo com a concentração MDA (A) e da dosagem de hidroperóxidos conforme concentração de Hidroperóxidos (B) no fígado nos grupos: Controle (C) (n=8), Controle com Óleo de Peixe (COP) (n=11), Hiperalimentado (H) (n=8) e Hiperalimentado com Óleo de Peixe (HOP) (n=14). Onde: (A) **** (p<0,0001) H vs C e #### (p<0,001) HOP vs H. (B): ** (p<0,01) H vs C e ### (p<0,001) HOP vs H.

A enzima SOD não demonstrou mudanças significativas de concentração entre os grupos experimentais (p>0,05). (Figura 3A). Em relação à catalase, o estudo demonstra atividade diminuída no fígado dos animais do grupo H quando comparados ao grupo controle (C) (p<0,05), contudo, o grupo HOP apresenta maior atividade dessa enzima que o grupo H (p<0,01) (Figura 3B).

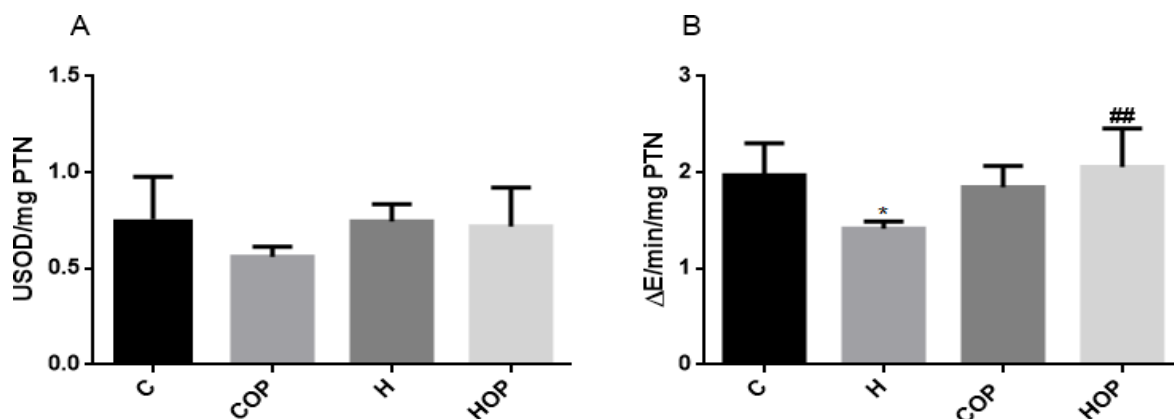


Figura 3 - Avaliação das enzimas antioxidantes: (A) Concentração de Superóxido Dismutase (SOD) e (B) Atividade Catalase, no fígado nos grupos: Controle (C) (n=8), Controle com Óleo de Peixe (COP) (n=11), Hiperalimentado (H) (n=8) e Hiperalimentado com Óleo de Peixe (HOP) (n=14). Onde: (B) * ($p < 0,05$) H vs C e ## ($p < 0,01$) HOP vs H.

4 DISCUSSÃO

A programação metabólica sucedeu no período de gestação e lactação dos filhotes. Nesse sentido, os animais do grupo HOP receberam de forma indireta os efeitos do óleo de peixe, visto que as mães foram suplementadas. Em consonância, observou-se a mudança do cenário antioxidante do grupo HOP em relação H, assim como no grupo H em relação ao grupo C.

Ao ômega 3 é atribuído a capacidade de modulação de fatores de transcrição, como, a proteína 1C ligadora do elemento regulatório de esterol (SREBP-1c). Esse fator de transcrição controla os genes envolvidos na síntese e esterificação do colesterol, portanto, um desequilíbrio nesse mecanismo pode tornar o organismo propício à deposição de lipídios tanto no tecido hepático quanto no adiposo^{11,12}.

Por conseguinte, os animais H apresentaram maior ganho de peso ao final da pesquisa em relação aos demais, inclusive o HOP, sugerindo que H era mais propenso a ganho de peso e deposição de gordura. O grupo HOP também esteve sujeito ao excesso alimentar durante a lactação, mas a suplementação indireta com óleo de peixe parece ter exercido efeito protetor no ganho de peso desses animais, em comparação ao+0 H. A modulação ao nível da transcrição, por exemplo, com o fator de transcrição SREBP-1c, pode ter ocorrido nas mães com o acréscimo do ômega 3 e passado à prole HOP via ligação

placentária. O excesso alimentar torna esse fator de transcrição metabolicamente mais ativo, porém os efeitos indiretos do ômega 3 nos camundongos hiperalimentados pode ter sido capaz de modular a atividade de SREBP-1c ou sua própria concentração^{11,12,13,14}.

Ademais, o peso do fígado maior nos animais do grupo H também foi notado, e esse é justificável pela deposição de gordura e possível inflamação e resistência à insulina. O fígado é a central energética corporal, importante para diversas vias metabólicas essenciais para o funcionamento do corpo. A percepção de um maior volume de tecido hepático em H, insinua que esse órgão estava sendo utilizado também na estocagem energética, seja de glicogênio ou gordura, além é claro de estar sobre um quadro inflamatório causado pelo excesso alimentar e provável resistência insulina^{15,16}.

Todavia, o grupo HOP não apresentou peso de fígado tão elevado, e isso pode ser explicado pela ação do óleo de peixe, uma vez que o ômega 3 pode reverter o acúmulo de lipídeos no fígado por induzir a autofagia mediada pela enzima dessaturase limitante da síntese de ácidos graxos monoinsaturados (SCD1)¹⁷. Os ácidos graxos ditos PUFA, isso inclui o ômega 3, são anti-inflamatórios e podem combater a resistência insulina no tecido hepático. Prevenir a inflamação pela inibição da fosforilação de NF- κ B, IKK e JNK, fatores pró-inflamatórios, é capacidade atribuída ao ômega 3¹⁵. Para tanto, essa inibição pode interferir no peso do fígado, inibindo a inflamação e o edema causado por ela. Além do potencial do suplemento frente a inflamação, este pode ter agido também contra a resistência insulina. Portanto, há a possibilidade do ômega 3 ter melhorado a ação da insulina nos animais do grupo HOP por inibir eventos pró-inflamatórios e por estimular a fosforilação de proteínas sinalizadoras imprescindíveis na via desse hormônio, como a IRS-1, IR, Akt, facilitando assim sua atividade^{15,18,19}.

O tecido adiposo epididimal dos camundongos do grupo HOP e H apresentaram peso semelhante, o que permite inferir que a suplementação materna com óleo de peixe não restringiu a lipogênese neste tecido.

O superávit calórico é recebido pelo metabolismo como condição de armazenamento energético, isso ocorre em maior grau pela lipogênese que é a estocagem em forma de gordura. Tal fator torna esse metabolismo e indivíduo susceptível a lesões oxidativas e comorbidades relacionadas, por exemplo, a resistência insulina, hiperlipidemia, hiperleptinemia, inflamação e baixa das defesas antioxidantes²⁰. Nos animais hiperalimentados, o estresse oxidativo hepático foi mais

Expressivo. Isso pode ser explicado pelo fato do excesso alimentar nesse período crítico facilitar a formação de radicais livres e inflamação, ter desencadeado também um prejuízo na atividade da enzima antioxidante catalase.

Um dos alvos dos radicais hidroperóxidos são os ácidos graxos constituintes de membrana. No presente estudo observou-se que a suplementação materna de ômega 3 promoveu a diminuição na formação de hidroperóxidos nos filhotes do grupo HOP. Dessa forma, a suplementação indireta diminui a degradação a nível de membrana pela possibilidade de interação do suplemento com os radicais livres e/ou pelo aumento da atividade da CAT, enzima responsável pela neutralização dos hidroperóxidos. Sendo assim, o ômega 3 previne que as células percam sua capacidade seletiva, e o domínio sobre os eventos apoptóticos²¹.

Outra via de interpretação possível é a capacidade do ômega 3 de se ligar a fatores de transcrição e aumentar a expressão/atividade de enzimas antioxidantes²². Sendo assim, a atividade de CAT foi mais expressiva em HOP em comparação com H, por outro lado, a atividade da CAT estava reduzida no fígado dos animais do grupo H (Figura 3B). Este fato pode ser explicado pela possibilidade de o excesso alimentar na lactação ter causado resistência à insulina e hiperlipidemia, eventos que contribuem para a formação de radicais livres e que possivelmente diminuem a atividade dessa enzima. Possivelmente a suplementação indireta diminuiu os danos causados pela hiperalimentação por modular positivamente a expressão da CAT e melhorar sua atividade, contribuindo com a diminuindo os danos provocados pelos radicais hidroperóxidos.

O excesso alimentar é vetor para a obesidade. Essa acentua a peroxidação lipídica e consequentemente o cenário de estresse oxidativo. A obesidade não carece estar associada de outras enfermidades de grau metabólica para favorecer a peroxidação, por si pode aumentar sua ação e diminuir a atividade de enzimas antioxidantes²⁴.

A peroxidação lipídica gera como produto secundário o malondialdeído (MDA) que é utilizado como marcador do estresse oxidativo, o excesso desse resultante da peroxidação é deletério pelo seu caráter citotóxico e genotóxico as células²³. Com efeito, a figura 2A permite inferir que o grupo H sofreu mais com a peroxidação lipídica em comparação com os grupos HOP e C. O excesso alimentar é efeito gerador para os radicais livres e isso fica evidente também pelo teste de TBARS na quantificação de MDA. Contudo, a suplementação materna de óleo de peixe no grupo HOP pode ter gerado efeitos positivos nos filhotes protegendo-os, ou os tornando menos predispostos a

peroxidação lipídica.

A suplementação indireta com óleo de peixe não aumentou a concentração da SOD no tecido hepático (Figura 3A). Cabe dizer que, a concentração da SOD não foi

comprometida, sendo a homeostase respeitada. Visto que, foi avaliado neste trabalho a concentração dessa enzima não é possível discutir acerca de sua atividade.

Por fim, é preciso frisar que a suplementação de ômega 3 nos camundongos tem caráter indireto, visto que, essencialmente, foram as mães que receberam o suplemento.

5 CONCLUSÃO

Nesse ínterim, a suplementação materna com óleo de peixe foi capaz de exercer efeito protetor contra o estresse oxidativo hepático em camundongos hiperalimentados no período pós natal. Contudo, novas investigações são necessárias para desvendar os mecanismos por trás desse achado.

6 REFERENCIAS

1. Berra CM, Menck CFM, Mascio PD. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. *Quim Nova*. 2006;29(6):1340-1344.
2. Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RDCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nutr*. 2010;23(4):629-643.
3. Silva DC, Cerchiaro G, Honório KM. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. *Quim Nova*. 2011;34(2):300-305.
4. Hernandez F, Valentini MP. Obesidade: causas e consequências em crianças e adolescentes. *Conexões*. 2010;8(3):47-63.
5. Guilloteau P, Zabielski R, Hammon HM, Metges CC. Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60(3):17-35.
6. Martin CA, Almeida VVD, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NED, Visentainer JV. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev. Nutr*. 2006;19(6):761-770.
7. Soares TS, Piovesan CH, Gustavo ADS, Macagnan FE, Bodanese LC, Feoli AMP. Hábitos alimentares, atividade física e escore de risco global de Framingham na síndrome metabólica. *Arq Bras Cardiol*. 2014;102(4):374-382.
8. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Meth Enzymol*. 1978;52:302-310.
9. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-254.
10. Graphpad, Overview sobre o software. [acesso em 2019 jun 21] Disponível em: <http://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>.

11. Cintra DE, Ropelle ER, Vitto MF, Luciano TF, Souza DR, Engelmann J et al. RETRACTED: Reversion of hepatic steatosis by exercise training in obese mice. *Life Sci.* 2012;91(11-12):395-401.
12. Abreu ICMED, Guerra JFDC, Pereira RR, Silva M, Lima WGD, Silva ME, Pedrosa ML. Hypercholesterolemic diet induces hepatic steatosis and alterations in mRNA expression of NADPH oxidase in rat livers. *Arch Endocrinol Metab.* 2014;58(3):251-259.
13. Soares LA, Takeuti TD, de Oliveira Valeri PA, Da Silva AA, Lara BHJ, Júnior JAT et al. Impactos nutricionais da ingestão alimentar dos ácidos graxos ômega 3 e óleo de palma: uma revisão. *RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento.* 2016;10(56):105-114.
14. Brolio M, Ambrósio CE, Francioli AR, Morini AC, Guerra RR, Miglino MA. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 2010;34(4):222-232.
15. Luz GD, Silva SD, Marques S, Luciano TF, Souza CTD. Suplementação de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 reduz marcadores inflamatórios e melhora a ação da insulina em fígado de camundongos. *Rev. Nutr.* 2012;25(5):621-629.
16. Tull SP, Yates CM, Maskrey BH, O'Donnell VB, Madden J, Grimble RF et al. Omega-3 fatty acids and inflammation: novel interactions reveal a new step in neutrophil recruitment. *PLoS Biol.* 2009;7(8):1-11.
17. Chen Y, Xu C, Yan T, Yu C, Li Y. ω -3 Fatty acids reverse lipotoxicity through induction of autophagy in nonalcoholic fatty liver disease. *Nutrition.* 2015;31(11-12):1423-1429.
18. Flachs P, Rühl R, Hensler M, Janovska P, Zouhar P, Kus V et al. Synergistic induction of lipid catabolism and anti-inflammatory lipids in white fat of dietary obese mice in response to calorie restriction and n-3 fatty acids. *Diabetologia.* 2011;54(10):2626-38.
19. Schmoll D, Walker KS, Aless DR, Grempler R, Burchell A, Guo S et al. Regulation of glucose6phosphatase gene expression by protein kinase B α and the forkhead transcription factor FKHR. Evidence for insulin response unitdependent and independent effects of insulin on promoter activity. *J Biol Chem.* 2000;275(46):36324-36333.
20. França BK, Alves MRM, Souto FMS, Tiziane L, Boaventura RF, Guimarães A et al. Peroxidação lipídica e obesidade: métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *GE Port J Gastroenterol.* 2013;20(5):199-206.
21. HALLIWEL B, GUTTERIDGE JMC. *Free radicals in biology and medicine.* 5a ed. USA: Oxford University Press; 2015.
22. Godeny P, Lozovoy MAB, Dichi JB, Dichi I. Efeito dos ácidos graxos n-3 no perfil glicêmico e lipídico, no estresse oxidativo e na capacidade antioxidante total de pacientes com síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2010;54(5):463-469.
23. Antunes MV, Lazzaretti C, Gamaro GD, Linden R. Preanalytical and validation studies for the determination of malondialdehyde in human plasma through high performance liquid chromatography after derivatization with 2, 4-dinitrophenylhydrazine. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.* 2008;44(2):279-287.
24. Olusi, S. O. "Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans." *International journal of obesity* 26.9 (2002): 1159-1164.