

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS
DOUTORADO**

WHAYNE ALECRIM

**IMPACTOS GENÉTICOS E BIOQUÍMICOS DA INGESTÃO
MATERNA DE MALTODEXTRINA E SACAROSE DURANTE A
GESTAÇÃO E LACTAÇÃO NA PROGRAMAÇÃO
METABÓLICA DA PROLE DE CAMUNDONGOS**

CRICIÚMA, FEVEREIRO DE 2025

WHAYNE ALECRIM

**IMPACTOS GENÉTICOS E BIOQUÍMICOS DA INGESTÃO
MATERNA DE MALTODEXTRINA E SACAROSE DURANTE A
GESTAÇÃO E LACTAÇÃO NA PROGRAMAÇÃO METABÓLICA DA
PROLE DE CAMUNDONGOS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof. Dra. Vanessa Moraes de Andrade.
Coorientadora: Prof. Dra. Marina Lummertz Magenis

CRICIÚMA, FEVEREIRO DE 2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

A366i Alecrim, Whayne.

Impactos genéticos e bioquímicos da ingestão materna de maltodextrina e sacarose durante a gestação e lactação na programação metabólica da prole de camundongos / Wayne Alecrim. - 2025.
78 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2025.

Orientação: Vanessa Moraes de Andrade.
Coorientadora: Marina Lummertz Magenis.

1. Maltodextrina - Efeito fisiológico. 2. Sacarose alimentar - Efeito fisiológico. 3. Suplementos nutricionais - Gravidez. 4. Testes de mutagenicidade. 5. Desenvolvimento fetal. 6. Doenças não transmissíveis. I. Título.

CDD 23. ed. 612.01578

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria N° 609 de 14.03.2019

PARECER

No dia 31 (trinta e um) do mês de março de 2025, às 14 (quatorze) horas, no Bloco R1/Sala 208, após o cumprimento legal de conclusão das disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado), realizaram-se a apresentação e a consequente defesa da tese intitulada: **“IMPACTOS GENÉTICOS E BIOQUÍMICOS DA INGESTÃO MATERNA DE MALTODEXTRINA E SACAROSE DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO NA PROGRAMAÇÃO METABÓLICA DA PROLE DE CAMUNDONGOS”**, da candidata **Wayne Alves Alecrim**. A Banca examinadora foi composta pelos(as) professores(as): **Dra. Alexandra Ioppi Zugno** (Membro Relator – UNESC), **Dr. Emilio Luiz Streck** (Membro Interno – UNESC), **Dra. Raquel Dal Sasso Freitas** (Membro Externo – Universidade La Salle) e **Dra. Gislaïne Tezza Rezin** (Membro Externo – UNISUL). Após a apresentação, a candidata foi arguido pela Banca Examinadora, que assim expressou o resultado final da tese:

Trabalho aprovado


Trabalho não aprovado

Observações:


Criciúma, SC, 31 de março de 2025.

Documento assinado digitalmente
 **ALEXANDRA IOPPI ZUGNO**
Data: 03/04/2025 15:19:03 -0300
verifique em <https://validar.it.gov.br>


Profa. Dra. ALEXANDRA IOPPI ZUGNO
Membro Relator – UNESC

Documento assinado digitalmente
 **EMILIO LUIZ STRECK**
Data: 04/04/2025 17:11:04 -0300
verifique em <https://validar.it.gov.br>


Prof. Dr. EMILIO LUIZ STRECK
Membro Interno – UNESC

Documento assinado digitalmente
 **RAQUEL DAL SASSO FREITAS**
Data: 02/04/2025 09:00:00 -0300
verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. RAQUEL DAL SASSO FREITAS
Membro Externo – Universidade La Salle

Documento assinado digitalmente
 **GISLAÏNE TEZZA REZIN**
Data: 03/04/2025 10:52:47 -0300
verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. GISLAÏNE TEZZA REZIN
Membro Externo – UNISUL

Documento assinado digitalmente
 **VANESSA MORAES DE ANDRADE**
Data: 01/04/2025 11:27:15 -0300
verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. VANESSA MORAES DE ANDRADE
Orientador(a)

Documento assinado digitalmente
 **JOSIANE BUDNI**
Data: 01/04/2025 10:39:58 -0300
verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. JOSIANE BUDNI
Coordenadora Titular do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A tese foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Biomedicina Translacional do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

A Deus, por me fortalecer e iluminar cada passo desta caminhada. À minha família, pelo amor incondicional e apoio em todos os momentos. Aos meus pais, pelo exemplo, ensinamentos e por sempre acreditarem em mim.

AGRADECIMENTOS

Chegar até aqui não foi um caminho fácil, mas é um momento de imensa gratidão. Agradeço a Deus por me fortalecer em cada etapa e por guiar meus passos ao longo dessa jornada. Sou profundamente grata aos meus pais, Deusdetina Alves Alecrim, cujo exemplo de dedicação ao estudo sempre me inspirou, e Ozias Dias de Alecrim, que, mesmo sem acesso a uma formação acadêmica ampla, sempre incentivou a busca pelo conhecimento e fez de tudo para que seus filhos alcançassem seus sonhos.

Meu agradecimento especial ao meu esposo, Huainer Beirigo, que esteve ao meu lado em todos os momentos, me apoiando, incentivando e, muitas vezes, me cobrando para que eu seguisse firme nesse caminho. Às minhas irmãs, Weulla, que acompanhou essa trajetória, sempre torcendo por mim, e Wenya, que esteve bem presente, compartilhando desafios e conquistas, minha eterna gratidão.

Agradeço à minha orientadora, Prof.^a Dra. Vanessa Moraes Andrade, por sua dedicação, paciência e comprometimento ao longo desta jornada. Seu conhecimento e paixão pela ciência, especialmente no campo da mutagênese, foi importante incentivo, e compreensão, tornando cada desafio uma oportunidade de aprendizado.

À minha coorientadora Prof.^a Dra. Marina Lummertz Magenis, expresso minha gratidão. Desde o início até a conclusão desta jornada, sua dedicação, paciência e apoio foram fundamentais a cada desafio. Seu conhecimento e experiência no Laboratório de Pesquisa em Genética Toxicológica, foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa, e sua disposição em compartilhar ensinamentos fez toda a diferença. Você foi uma mentora e um suporte indispensável em cada etapa. Sou imensamente grata por todo o tempo, incentivo ao longo dessa caminhada.

Agradeço a todos os integrantes do Laboratório de Biomedicina Translacional do Grupo de Pesquisa em Genética Toxicológica (GPGTOX), que, com dedicação e parceria, contribuíram para a realização deste trabalho. Um agradecimento especial à Isadora Monteiro, pelo apoio e colaboração.

Ao grupo do professor Emílio pela colaboração nas análises de estresse oxidativo. Obrigada!

Meu carinho também à minha amiga e companheira de percurso, Maria Carolina, por todo o apoio e incentivo ao longo desse processo.

À UNESC em parceria com UniRV, que proporcionou a realização do meu doutorado.

Por fim, meu sincero agradecimento a todos que, de alguma forma, contribuíram para esta caminhada. Cada palavra de apoio, cada gesto de incentivo e cada aprendizado compartilhado fizeram toda a diferença.

"A sabedoria não vem do acúmulo de conhecimento, mas da capacidade de aplicá-lo com discernimento. A fé nos dá forças para continuar, e o conhecimento nos mostra o caminho."

Aristóteles

RESUMO

Eventos metabólicos precoces no período uterino podem aumentar a suscetibilidade a doenças crônicas na vida adulta. A nutrição fetal e neonatal, com excesso de açúcares, pode levar a distúrbios como obesidade, resistência insulínica e diabetes. Este estudo avaliou os efeitos do consumo de maltodextrina e sacarose em fêmeas de camundongos *Swiss* tratadas durante a gestação e lactação, bem como em sua prole. Utilizaram-se casais de 60 dias de vida, com intervenções nutricionais (maltodextrina 10%/L ou sacarose 10%/L ou na água) durante a cópula, gestação e lactação (7, 21 e 21 dias, respectivamente), totalizando 49 dias. Após, as fêmeas foram eutanasiadas para análises genéticas (ensaio cometa, teste de micronúcleo) e bioquímicas (glicemia e cadeia transportadora de elétrons). Também foram monitorados consumo alimentar e peso corporal das fêmeas. A prole (machos e fêmeas), após o nascimento, foi acompanhada aos 21 e 30 dias de vida, sendo realizadas análises genéticas (ensaio cometa, teste de micronúcleo), bioquímicas (glicemia, estresse oxidativo e cadeia transportadora de elétrons) e peso corporal. Os resultados mostraram que maltodextrina e sacarose aumentaram a ingestão de líquidos e calorias, sem alterar o peso corporal das fêmeas. O grupo sacarose apresentou glicemia de jejum significativamente maior ($149,5 \pm 19,5$ mg/dL) que o controle ($122,0 \pm 7,7$ mg/dL). O ensaio cometa mostrou aumento do dano ao DNA nas fêmeas após a gestação e lactação em todos os grupos, sendo maior no córtex para maltodextrina ($p < 0,05$), mas sem diferenças no fígado e hipocampo. O teste de micronúcleos revelou aumento de micronúcleos em EPC no grupo maltodextrina ($p < 0,05$). Na cadeia respiratória, o Complexo I aumentou no fígado das fêmeas tratadas com ambos os carboidratos e o Complexo II-III diminuiu no grupo sacarose. No córtex, ambos carboidratos aumentaram a atividade do Complexo II e reduziram a do Complexo IV. No hipocampo, a atividade do Complexo I aumentou nos dois grupos, sendo o Complexo IV maior no maltodextrina. O estresse oxidativo foi evidente, com redução de sulfidrilas no córtex para maltodextrina e maior dano oxidativo no grupo sacarose. Na prole, os machos do grupo sacarose apresentaram maior peso corporal aos 21 dias ($9,3 \pm 1,7$ g vs. $8,8 \pm 1,3$ g no controle), e a glicemia aumentou significativamente nas fêmeas aos 30 dias. O ensaio cometa mostrou aumento dos danos ao DNA no sangue e no córtex das fêmeas ($p < 0,05$) em ambos os grupos. No sangue dos machos, houve dano ao DNA aos 21 dias para ambos os carboidratos e aos 30 dias apenas no grupo sacarose ($p < 0,05$). O teste de micronúcleos revelou aumento de micronúcleos em EPC no grupo sacarose aos 30 dias em ambos os sexos ($p < 0,05$). A proporção EPC/ENC permaneceu inalterada. Na cadeia respiratória, o Complexo I aumentou no fígado dos machos tratados com ambos os carboidratos, e o Complexo II diminuiu no grupo maltodextrina ($p < 0,05$). No córtex, o Complexo II foi maior no grupo sacarose, e no hipocampo, o Complexo I aumentou nos dois grupos. Nas fêmeas, no fígado, a atividade do Complexo I aumentou, e no córtex, o Complexo I e II foram maiores no grupo sacarose. No hipocampo, o Complexo II foi menor no maltodextrina, mas maior no grupo sacarose. O estresse oxidativo foi mais evidente nos machos do grupo sacarose, com aumento da atividade da SOD no córtex. Nas fêmeas, a atividade de SOD foi maior no grupo sacarose ($p < 0,05$), sugerindo uma resposta antioxidante diferencial entre os sexos. Esses achados sugerem que o consumo de maltodextrina e sacarose durante gestação e lactação pode induzir alterações metabólicas, genéticas e oxidativas com potenciais impactos na saúde das mães e da prole a longo prazo, reforçando a importância do controle do consumo de açúcares nesses períodos críticos de gestação e lactação.

Palavras-chave: maltodextrina; sacarose; genotoxicidade; mutagenicidade; programação fetal.

ABSTRACT

Early metabolic events during the uterine period may increase susceptibility to chronic diseases in adulthood. Fetal and neonatal nutrition, particularly excessive sugar intake, can lead to disorders such as obesity, insulin resistance, and diabetes. This study evaluated the effects of maltodextrin and sucrose consumption in Swiss mouse dams treated during gestation and lactation, as well as in their offspring. Couples aged 60 days were used, with nutritional interventions (maltodextrin 10%/L or sucrose 10%/L or in water) during copulation, gestation and lactation (7, 21 and 21 days, respectively), totaling 49 days. Afterwards, the females were euthanized for genetic (comet assay, micronucleus test) and biochemical (blood glucose and electron transport chain) analyses. Food consumption and body weight of the females were also monitored. The offspring (males and females), after birth, were monitored at 21 and 30 days of life, with genetic (comet assay, micronucleus test), biochemical (blood glucose, oxidative stress and electron transport chain) and body weight analyses being performed. The sucrose group exhibited significantly higher fasting glycemia (149.5 ± 19.5 mg/dL) compared to the control group (122.0 ± 7.7 mg/dL). The comet assay indicated increased DNA damage in dams after gestation and lactation in all groups, with the highest damage in the cortex for maltodextrin ($p < 0.05$), though no differences were observed in the liver and hippocampus. The micronucleus test revealed an increase in micronuclei in erythropoietic cells (EPCs) in the maltodextrin group ($p < 0.05$). In the respiratory chain, Complex I activity was elevated in the liver of dams treated with both carbohydrates, while Complex II-III activity decreased in the sucrose group. In the cortex, both carbohydrates increased Complex II activity and reduced Complex IV activity. In the hippocampus, Complex I activity increased in both groups, whereas Complex IV was higher in the maltodextrin group. Oxidative stress was evident, with reduced sulfhydryl levels in the cortex of the maltodextrin group and increased oxidative damage in the sucrose group. In the offspring, males in the sucrose group exhibited higher body weight at 21 days (9.3 ± 1.7 g vs. 8.8 ± 1.3 g in the control group), and glycemia significantly increased in females at 30 days. The comet assay showed increased DNA damage in blood and cortex of female offspring ($p < 0.05$) in both groups. In male offspring, DNA damage was observed in blood at 21 days for both carbohydrates and at 30 days only in the sucrose group ($p < 0.05$). The micronucleus test revealed increased micronuclei in EPCs in the sucrose group at 30 days in both sexes ($p < 0.05$), whereas the EPC/ENC ratio remained unchanged. In the respiratory chain, Complex I activity increased in the liver of male offspring treated with both carbohydrates, while Complex II activity decreased in the maltodextrin group ($p < 0.05$). In the cortex, Complex II activity was higher in the sucrose group, whereas in the hippocampus, Complex I activity increased in both groups. In female offspring, liver Complex I activity increased, and in the cortex, Complex I and II activities were higher in the sucrose group. In the hippocampus, Complex II activity decreased in the maltodextrin group but increased in the sucrose group. Oxidative stress was more pronounced in males of the sucrose group, with increased superoxide dismutase (SOD) activity in the cortex. In females, SOD activity was higher in the sucrose group ($p < 0.05$), suggesting a sex-specific antioxidant response. These findings suggest that maltodextrin and sucrose consumption during gestation and lactation may induce metabolic, genetic, and oxidative alterations with potential long-term health impacts on both dams and offspring, reinforcing the importance of controlling sugar intake during these critical periods.

Keywords: maltodextrin; sucrose; genotoxicity; mutagenicity; fetal programming.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1. Estrutura dos monossacarídeos e dissacarídeos. | 17 |
| Figura 2. Desenho experimental e linha do tempo | 31 |
| Figura 3. Consumo calórico (kcal) de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 40 |
| Figura 4. Tail Intensity (%) de sangue total periférico de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 42 |
| Figura 5. Tail Intensity (%) de sangue total periférico de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 43 |
| Figura 6. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no fígado de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 45 |
| Figura 7. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no córtex de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 46 |
| Figura 8. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no hipocampo de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 47 |
| Figura 9. Tail Intensity (%) de tecidos periféricos da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 50 |
| Figura 10. Tail Intensity (%) de tecidos cerebrais da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 51 |
| Figura 11. Tail Intensity (%) de tecidos periféricos da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 52 |

| | |
|--|----|
| Figura 12. Tail Intensity (%) de tecidos cerebrais da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 53 |
| Figura 13. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no fígado da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 55 |
| Figura 14. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no córtex da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 56 |
| Figura 15. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no hipocampo da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 57 |
| Figura 16. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no fígado da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 58 |
| Figura 17. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no córtex da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 59 |
| Figura 18. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no hipocampo da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 60 |
| Figura 19. Atividade da superóxido dismutase (SOD) e da catalase (CAT) no córtex da prole fêmea e macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 61 |
| Figura 20. Dano oxidativo do córtex da prole fêmea e macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 62 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Ingestão de líquidos (mL), ração animal (g) e peso corporal de camundongos Swiss fêmeas que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 39 |
| Tabela 2. Glicemia de jejum (mg/dL) de camundongos Swiss fêmeas que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. | 41 |
| Tabela 3. Número de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) observados nas amostras de medula óssea de fêmeas matrizes que receberam água ou maltodextrina ou sacarose..... | 44 |
| Tabela 4. Peso corporal da prole (fêmeas e machos) de camundongos Swiss fêmeas que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação | 48 |
| Tabela 5. Glicemia de jejum (mg/dL) da prole (fêmeas e machos) de camundongos Swiss fêmeas que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação..... | 49 |
| Tabela 6. Número de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) observados nas amostras de medula óssea da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação | 54 |
| Tabela 7. Número de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) observados nas amostras de medula óssea da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação | 54 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------|---|
| ANAD | Associação Brasileira de Atenção ao Diabetes |
| ABESO | Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica |
| ANOVA | Análise de variância de uma via |
| CAT | Catalase |
| CEA | Centro de Experimentação Animal |
| CEUA | Comissão de Ética no Uso de Animais |
| CONCEA | Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal |
| DCFH | 2',7'-diclofluoresceína |
| DCNT | Doenças crônicas não-transmissíveis |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico (do inglês, <i>Deoxyribonucleic acid</i>) |
| DOHaD | Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença |
| EO | Estresse oxidativo |
| EPC/ENC | Relação entre eritrócitos policromáticos e eritrócitos normocromáticos |
| EPCMn | Eritrócitos policromáticos micronucleados |
| ERO | Espécies reativas de oxigênio |
| IMC | Índice de massa corporal |
| KCAL | Quilocaloria |
| L | Litros |
| ML | Milímetros |
| MN | Micronúcleos |
| O ₂ | Radical superóxido |
| OH | Radical hidroxila |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| SDH | Succinato desidrogenase |
| SOD | Superóxido Dismutase |
| TBARS | Ácido tiobarbitúrico |
| UV | Luz ultravioleta |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1 CONSUMO DE CARBOIDRATOS: MALTODEXTRINA E SACAROSE..... | 16 |
| 1.2 DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSÍVEIS E GESTAÇÃO | 21 |
| 1.3 DANOS AS MACROMOLÉCULAS NA GESTAÇÃO | 24 |
| 2. OBJETIVOS | 27 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 27 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 27 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 28 |
| 3.1 ANIMAIS | 28 |
| 3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS E DESENHO EXPERIMENTAL | 29 |
| 3.3 TRATAMENTOS..... | 31 |
| 3.3.1 Maltodextrina e sacarose | 31 |
| 3.3.1.1 Preparo da solução de maltodextrina e sacarose | 32 |
| 3.4 PESO CORPORAL E CONSUMO ALIMENTAR DOS ANIMAIS | 32 |
| 3.5 GLICEMIA DE JEJUM..... | 32 |
| 3.6 ENSAIOS DE GENOTOXICIDADE | 33 |
| 3.6.1 Ensaio Cometa alcalino | 33 |
| 3.6.2 Teste de Micronúcleos (MN) | 34 |
| 3.7 ATIVIDADE DA CADEIA TRANSPORTADORA DE ELÉTRONS | 34 |
| 3.7.1 Determinação da atividade da enzima succinato desidrogenase | 34 |
| 3.7.2 Determinação da atividade do Complexo I (NADH desidrogenase) | 35 |
| 3.7.3 Determinação da atividade do Complexo II (succinato: DCIP oxirredutase) .. | 35 |
| 3.7.4 Determinação da atividade do Complexo II+CoQ+III (succinato: citocromo e oxirredutase) | 35 |
| 3.7.5 Determinação da atividade do Complexo IV (citocromo c oxidase) | 35 |
| 3.8 PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO..... | 36 |
| 3.8.1 Dosagem de proteínas | 36 |
| 3.8.2 Dosagem do conteúdo de sulfidrilas | 36 |
| 3.8.3 Medida da oxidação de 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH) | 37 |
| 3.8.4 Medida dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) .. | 37 |
| 3.8.5 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD) | 37 |

| | |
|---|-----------|
| 3.8.6 Atividade da Catalase (CAT) | 38 |
| 3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 38 |
| 4. RESULTADOS | 39 |
| 4.1 RESULTADOS DAS FÊMEAS MATRIZES | 39 |
| 4.1.1 Consumo alimentar, peso corporal e glicemia de jejum | 39 |
| 4.1.1 Genotoxicidade | 41 |
| 4.1.1.1 Ensaio Cometa..... | 41 |
| 4.1.1.2 Teste de Micronúcleos..... | 44 |
| 4.1.2 Cadeia respiratória mitocondrial de fêmeas matrizes | 44 |
| 4.2 RESULTADOS DA PROLE (FÊMEAS E MACHOS) | 48 |
| 4.2.1 Peso corporal e glicemia de jejum | 48 |
| 4.2.2 Genotoxicidade | 49 |
| 4.2.2.1 Ensaio Cometa..... | 49 |
| 4.2.2.2 Teste de Micronúcleos..... | 53 |
| 4.2.3 Cadeia respiratória mitocondrial na prole | 54 |
| 4.2.3.1 Prole fêmea | 54 |
| 4.2.3.2 Prole macho | 57 |
| 4.2.4 Estresse oxidativo na prole em córtex | 60 |
| 5. DISCUSSÃO | 63 |
| 6. CONCLUSÃO | 70 |
| REFERÊNCIAS | 71 |
| ANEXO A – CEUA | 78 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 CONSUMO DE CARBOIDRATOS: MALTODEXTRINA E SACAROSE

Os carboidratos são constituídos por carbono, hidrogênio e oxigênio e desempenham importantes funções nos seres vivos, representando uma parcela significativa da necessidade alimentar de um organismo, e estão presentes em diversos alimentos naturais ou industrializados. Os carboidratos são a principal fonte de energia na dieta da maioria dos indivíduos e têm um papel especial no metabolismo energético (MANN *et al.*, 2007).

Nesse contexto, através de propriedades químicas dos carboidratos, podem ser classificados em monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos e polióis (SCAPIN, 2016). O monossacarídeo mais abundante na natureza é a glicose, que apresenta apenas uma unidade sacarídea. Já os dissacarídeos, são aqueles que possuem duas unidades de monossacarídeos (NELSON; COX, 2018). Os oligossacarídeos, são formados pela união de dois a dez monossacarídeos, geralmente hexoses que compreendem os malto-oligossacarídeos, dentre outros. Já os polissacarídeos, englobam os amidos e polissacarídeos não-amiláceos, ou seja, que possuem mais de dez unidades de monossacarídeos na molécula. Em relação aos polióis, estes são carboidratos hidrogenados constituídos por grupos de álcool e sacarídeos (SCAPIN, 2016).

Os açúcares livres incluem os monossacarídeos glicose, galactose e frutose, bem como os dissacarídeos sacarose (açúcar de mesa), maltose e lactose (NELSON; COX, 2018). Já os polissacarídeos correspondem aos carboidratos complexos, destacando-se a maltodextrina, um polímero de glicose (SAPATA; FAYH; OLIVEIRA, 2006).

A sacarose é um dissacarídeo formado pela união de dois monossacarídeos, glicose e frutose, por meio de uma ligação glicosídica (NELSON; COX, 2018). Sua fórmula química, $C_{12}H_{22}O_{11}$, resulta da condensação entre esses monossacarídeos, conforme ilustrado na Figura 1 (CHANDEL, 2021). Embora seja comumente extraída da cana-de-açúcar, também pode ser comercialmente obtida da beterraba e de algumas palmeiras. Este dissacarídeo representa o principal produto da fotossíntese nas plantas e ocorre de forma natural em frutas, vegetais, néctar e na seiva de diversas plantas (SCAPIN, 2016).

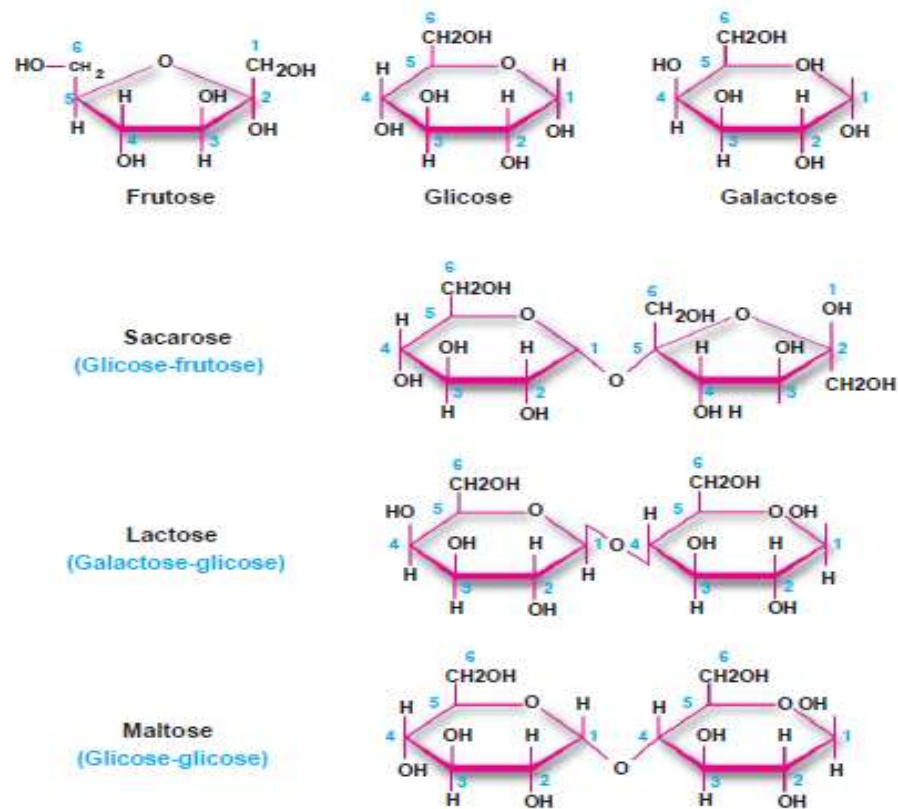


Figura 1. Estrutura dos monossacarídeos e dissacarídeos. Fonte: CHANDEL, 2021.

Em relação à sacarose, as enzimas presentes na cavidade oral quebram parcialmente a sacarose em glicose e frutose. No entanto, a maior parte da digestão desse açúcar ocorre no intestino delgado. A enzima sacarase, produzida pelo intestino delgado, divide a sacarose em glicose e frutose (CHANDEL, 2021).

A maltodextrina é um polissacarídeo constituído por cadeias de moléculas de glicose, muito utilizado como aditivo em bebidas comerciais, bem como em diversos alimentos ultraprocessados. Trata-se de um carboidrato de rápida digestão, com alta disponibilidade energética, frequentemente empregado na indústria alimentícia para conferir textura, melhorar a solubilidade e atuar como agente espessante ou estabilizante (KENDIG *et al.*, 2014).

Segundo Fontana e Souto (2020), a maltodextrina não causa o mesmo pico de glicose na corrente sanguínea como o açúcar ou xarope de milho, por conta de sua estrutura química. Tem um sabor neutro, portanto não é usada como adoçante, pois não é doce o suficiente. No entanto, é usada como espessante para sopas, molhos cremosos, molhos para saladas, branqueadores de café e fórmulas para bebês, sendo muito útil na indústria alimentícia. É ainda utilizada na indústria farmacêutica como veículo em comprimidos. De acordo com a

Associação Brasileira de Atenção ao Diabetes (ANAD) (2019), a maltodextrina substitui o açúcar ou a gordura em alimentos processados de baixa caloria. Neste caso, atuam com a finalidade de diluir os edulcorantes dando volume ao produto, como adoçantes artificiais e de mesa e são usadas como fonte de carboidrato para géis e suplementos esportivos.

Pessoas que estão passando por algum problema nutricional ou que buscam alimentos de baixas calorias, buscam usufruir de alimentos e bebidas, sem acréscimos calóricos à dieta, comparado aos produtos habituais com açúcar. Um exemplo, seria a maltodextrina, um polissacarídeo adicionado a bebidas e alimentos com alto poder adoçante (KENDIG *et al.*, 2014). A maltodextrina é produzida artificialmente através de uma reação enzimática a partir do amido de milho, trigo, batatas ou arroz, logo não é encontrada na natureza. É um carboidrato altamente refinado, altamente solúvel em água, com alto índice glicêmico e desprovido de nutrientes, podendo estar embutido em alimentos *ligh* e *diet zero* (FONTANA; SOUTO, 2020).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o consumo de açúcares livres não ultrapasse 10% da ingestão calórica total diária em adultos, e, para aqueles com comorbidades, esse limite deve ser reduzido para 5% (WHO, 2015). No entanto, os brasileiros consomem, em média, 50% a mais do que o recomendado, o que equivale a cerca de 18 colheres de chá de açúcar por dia (aproximadamente 80g). Esse valor supera o limite máximo aconselhado pela OMS, que é de 12 colheres de chá diárias. Desse total, 64% correspondem ao açúcar adicionado diretamente aos alimentos e bebidas, enquanto o restante provém de produtos processados e ultraprocessados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

A frequência de adultos que referiram o consumo de refrigerantes em cinco ou mais dias da semana variou entre 7,0% em Salvador a 24,1% em Curitiba (VIGITEL, 2023). Sabe-se que o consumo excessivo de açúcar está associado a desfechos adversos à saúde, como cáries dentárias (MOYNIHAN; KELLY, 2014), ganho de peso (TE MORENGA; MALLARD; MANN, 2012), doenças cardiovasculares (HUANG *et al.*, 2023) e diabetes tipo II (MENG *et al.*, 2021).

Embora a rápida digestão e absorção dos carboidratos ofereçam benefícios na nutrição esportiva, essa característica pode não ser desejável, especialmente para indivíduos com diabetes ou síndrome metabólica, devido à elevação glicêmica resultante. Por outro lado, evidências indicam que um maior consumo de carboidratos de liberação lenta está associado a benefícios à saúde. Além disso, os carboidratos consumidos na forma de açúcares ou amido desencadeiam respostas metabólicas distintas em comparação àqueles ingeridos em conjunto com fibras, vitaminas, minerais e baixo teor de gorduras. Dessa forma, é fundamental considerar o tipo de carboidrato consumido, uma vez que ele pode influenciar

significativamente a variabilidade glicêmica pós-prandial, refletindo a capacidade desses nutrientes de modular diferentes respostas metabólicas após as refeições (JENKINS *et al.*, 2002).

Em 2020, aproximadamente 2,6 bilhões de crianças e adolescentes em todo o mundo estavam acima do peso, representando aproximadamente 38% da população mundial, e espera-se que chegue a 50% até 2035. Estimativas recentes indicaram que até 2050, aproximadamente 57% das crianças e adolescentes de 2 a 19 anos apresentarão obesidade (WOF, 2023).

As análises da evolução anual dos indicadores relacionados ao estado nutricional e consumo alimentar desde 2006 até 2023 do Vigitel, indicam que 61,4% da população brasileira apresentava excesso de peso em 2023, com uma média de aumento de 1 ponto percentual ao ano. Esse crescimento foi mais acentuado entre as mulheres, cujo índice variou de 38,5% em 2006 para 59,6% em 2023 (VIGITEL, 2024).

Somado a isso, a frequência de adultos com obesidade aumentou no período entre 2006 e 2023, variando de 11,8%, em 2006, a 24,3% em 2023. Esse aumento foi observado em ambos os sexos, sendo maior entre as mulheres, variando de 12,1%, em 2006, a 24,8% em 2023. Na análise do período mais recente, entre 2018 e 2023, manteve-se o cenário de aumento na população total e em ambos os sexos, com maior aumento entre os homens, variando de 18,7%, em 2018, a 23,8% em 2023 (VIGITEL, 2024).

A etiologia da obesidade e dos distúrbios metabólicos não está apenas relacionada com à interação entre genes e fatores de risco tradicionais, como dieta inadequada e falta de atividade física, mas também está fortemente associada à interação entre genes e o ambiente durante as fases embrionária, fetal e pós-natal precoce. Assim, diferentes tipos de açúcares adicionados na dieta materna resultam em diferentes respostas metabólicas na programação do desenvolvimento da lipogênese. Desta forma, tanto a subnutrição como a super nutrição na gestação e lactação, podem ser determinantes críticos nas origens da predisposição do desenvolvimento da obesidade (HEERWAGEN *et al.*, 2010).

A ingestão elevada de açúcar pode contribuir para ganho de peso durante a gestação, aumentando o risco de macrosomia fetal ou baixo peso ao nascer. Além disso, o consumo excessivo de frutose e sacarose está associado a várias condições de saúde, como síndrome metabólica, obesidade, função cognitiva prejudicada, alterações na microbiota intestinal, infertilidade, além de depressão e ansiedade. Há também uma associação entre o alto consumo de açúcar e o aumento do risco de diabetes gestacional, hipertensão, pré-eclâmpsia e parto prematuro (CASAS; BARQUERO; ESTRUCH, 2020).

Diversas substâncias químicas podem apresentar um sabor doce, além dos sacarídeos, e a percepção desses sabores podem sofrer influência nos hábitos de vida desde as primeiras fases de desenvolvimento humano. A primeira experiência com sabores ocorre no período gestacional, no ambiente intraútero, onde o sabor do líquido amniótico muda de acordo com a dieta materna. Posteriormente, essas experiências são ampliadas através do aleitamento materno (PODZIMEK *et al.*, 2018).

A exposição precoce a diferentes sabores desempenha um papel importante na formação das preferências alimentares na vida adulta. A sensibilidade fetal a fatores ambientais a partir da terceira semana embrionária torna esse período essencial para alterações metabólicas. Dietas maternas hiperlipídicas e a introdução precoce de alimentos não saudáveis contribui significativamente para o aumento de doenças crônicas não transmissíveis, como hipertensão, obesidade, diabetes e outras doenças crônicas na prole, destacando o impacto da nutrição inicial na saúde ao longo da vida (PALANCH; CAMPOS, 2017).

O estudo conduzido por Stephanie, Rother e Hanover (2019) evidencia que a exposição pré e pós-natal a adoçantes (sucralose e acessulfame-K) em camundongos na gestação e lactação resulta na regulação negativa dos mecanismos de detoxificação hepática e alterações nos metabólitos bacterianos, afetando o metabolismo e o microbioma da prole, predizendo uma desregulação na programação metabólica. Esses achados indicam, que o consumo desses adoçantes durante a gravidez e lactação pode ocasionar danos no metabolismo infantil.

O consumo de sucralose no período perinatal está associado ao aumento do risco de obesidade, asma e doença celíaca. Esses estudos reforçam a necessidade de cautela no consumo de adoçantes artificiais durante fases críticas do desenvolvimento, dado o potencial risco de comprometimento da saúde metabólica da prole (FAITH *et al.*, 2013; BÄCKHED *et al.*, 2015). Somado a isso, o estudo de Sclafani e Xenakis (1984) mostra que a sacarose e a polydose (uma marca usada de maltodextrina nos Estado Unidos) levaram a um padrão equivalente de hiperfagia e ganho de peso acelerado, mostrando que o consumo de soluções de polissacarídeos, bem como soluções de açúcar doce podem levar à obesidade.

O consumo de sacarose durante a adolescência tardia em ratos prejudicou o desempenho de memória na idade adulta e reduziu a neurogênese no hipocampo dorsal, indicando uma correlação entre a ingestão de sacarose e déficits cognitivos associados a alterações hipocampais (SÁNCHEZ-HUERTA *et al.*, 2022). Dietas ricas em açúcares e gorduras podem levar a déficits cognitivos, destacando o papel do hipocampo e discutindo possíveis mecanismos subjacentes, como inflamação e alterações no fator neurotrófico derivado

do cérebro (BEILHARZ; MANIAM; MORRIS, 2015). São necessárias mais pesquisas para compreender plenamente os efeitos desses carboidratos nas diferentes regiões do cérebro e suas implicações para a função cognitiva.

É consenso a importância de incentivar a população em geral o consumo de carboidratos a partir de vegetais, priorizando a ingestão de alimentos minimamente processados, e o consumo de forma moderada de alimentos processados ou ultraprocessados. A presença de açúcares ocultos em alimentos industrializados constitui uma preocupação significativa, pois contribui para o aumento da incidência de doenças crônicas não transmissíveis. Nesse contexto, é importante promover ações educativas para a população sobre a presença de açúcares adicionados de forma oculta em alimentos industrializados, os quais são responsáveis a diversos agravos à saúde (SILVA *et al.*, 2019).

1.2 DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSÍVEIS E GESTAÇÃO

O consumo alimentar tem passado por uma mudança, tanto na qualidade quanto na e quantidade dos produtos que disponíveis, resultando em um maior consumo de alimentos ultraprocessados e com alto valor calórico. Aliado ao sedentarismo, esse cenário tem contribuído para o aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade. Além disso, fatores como renda, demanda, urbanização e globalização exercem influência sobre os hábitos alimentares da população. As mudanças na dieta e na prática de atividades físicas estão diretamente relacionadas às transformações demográficas e socioeconômicas, refletindo um estilo de vida cada vez mais influenciado por essas variáveis (MORATOYA *et al.*, 2013).

Devido a essas alterações nos padrões alimentares, as doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT), aquelas que se manifestam ao longo da vida, muitas vezes de maneira silenciosa, estão promovendo incapacidade e mortes prematuras na população mundial e atingindo de forma crescente os países em desenvolvimento e recém-desenvolvidos, afetando os sistemas de saúde (WHO, 2024).

As DCNT, incluem obesidade, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, hipertensão e acidente vascular cerebral e alguns tipos de câncer. Essas, foram responsáveis por 38 milhões de mortes das 56 milhões no mundo em 2012, onde 40% ocorreram com idade menor que 70 anos. São vários os fatores de risco para a DCNT, dentre os modificáveis se destaca a exposição ambiental, inatividade física e hábitos alimentares, assim como a obesidade e a dislipidemia (WHO, 2015).

Eventos metabólicos precoces durante o período uterino podem estar associados à suscetibilidade a DCNT na vida adulta do feto (GLUCKMAN; HANSON; PINAL, 2005). A linha de pesquisa conhecida como Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (DOHaD) agrega informações de diferentes áreas do conhecimento, sendo uma interface interessante entre as ciências biológicas e a área da saúde. Essa considera a relação entre variações ambientais na vida precoce, em fases críticas do desenvolvimento, como a gestação e a infância, podendo ter um impacto duradouro na saúde. Um dos principais focos da DOHaD é a interação entre genes e fatores ambientais, e como essa interação pode resultar em diferentes desfechos metabólicos e de saúde. Tem uma visão ampla integrando variáveis genéticas, epigenéticas e ambientais. Por exemplo, variações na nutrição materna ou exposição a toxinas durante a gestação podem influenciar a programação de sistemas biológicos do feto, como o sistema endócrino, imunológico e metabólico, predispondo o indivíduo a desenvolver doenças crônicas na vida adulta, como diabetes e obesidade (SILVEIRA *et al.*, 2007).

Um dos mecanismos discutidos na programação metabólica é a epigenética, pois alterações intrauterinas podem se perpetuar por gerações. Quando os pais não são obesos, o risco de obesidade é de 9%, aumentando para 50% quando um dos genitores apresenta obesidade e podendo alcançar 80% quando ambos são obesos. No entanto, nem todos os indivíduos ganham a mesma quantidade de peso quando expostos a dietas hipercalóricas, uma vez que a obesidade possui herança poligênica (ABESO, 2016).

A hiperglicemia induzida pelo estresse oxidativo pode causar danos ao material genético materno, embora seu impacto sobre as células fetais ainda não seja totalmente esclarecido. Os mecanismos de reparo do DNA podem ser determinantes para diminuir os efeitos prejudiciais da hiperglicemia no DNA materno e fetal, contribuindo para a prevenção de doenças na vida adulta. Dessa forma, o controle glicêmico materno é destacado como um aspecto fundamental na prática clínica para minimizar esses danos e proteger a saúde do feto (MORELI *et al.*, 2014).

Sabe-se que durante a gravidez o ambiente intrauterino define a trajetória para surgimento de doenças na infância ou no adulto. A programação, evento este definido por estímulos durante o início do desenvolvimento, se estende até período da infância, onde diferentes órgãos e sistemas continuam a se adaptar, gerando mudanças que persistem ao longo da vida. Agravos como inflamação, hipóxia, estresse e toxinas, assim como mudanças na composição nutricional, atuam no fenótipo adulto (CALKINS; DEVASKAR, 2011).

No período gestacional tem-se um aumento do consumo de nutrientes materno, pois há uma maior necessidade metabólica de energia, mas, é necessário haver um equilíbrio entre

a ingestão e o quanto é recomendado de cada nutriente, pois tanto o excesso quanto a falta neste período podem ser nocivos ao feto (MARANGONI *et al.*, 2016), visto que, podem estar relacionadas com deficiência no crescimento fetal, na predisposição a doenças crônicas como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão, obesidade e outros (YAYA *et al.*, 2018).

O peso ao nascer, se associa positivamente com o IMC (índice de massa corporal) adulto. Entretanto, podem existir efeitos intrauterinos sobre o IMC adulto que não se manifestam em aumento do peso ao nascimento, pois o baixo peso ao nascer também pode gerar risco para a obesidade adulta, ou seja, os extremos de desequilíbrio intraútero podem favorecer a maior risco para obesidade (ABESO, 2016). O crescimento fetal restrito, por exemplo, está associado a um risco aumentado de doença cardíaca coronária, acidente vascular cerebral, diabetes e pressão arterial elevada, pois associa-se a recuperação pós-natal rápida; assim como a macrosomia fetal está ligada a risco de diabetes e doenças cardiovasculares (CALKINS; DEVASKAR, 2011).

A gestante com obesidade ou diabética representa outra forma de programação, estando ligada à resistência insulínica e obesidade no feto. O diabetes mellitus gestacional produz um aumento da liberação de glicose e outros macronutrientes para o feto, resultando em aumento da produção fetal de insulina, o hormônio de crescimento fetal dominante. Assim, esses bebês tem adiposidade aumentada e níveis elevados de insulina e leptina (CALKINS; DEVASKAR, 2011).

Estudos em ratos com modelos obesogênicos, como dietas ricas em gordura e superalimentação pós-natal, destacam a relevância do período de amamentação no desenvolvimento metabólico da prole. Esse período é importante para o surgimento de alterações como aumento da adiposidade, hiperleptinemia e hipertensão, mesmo quando os descendentes recebem uma dieta balanceada após o desmame. O autor também sugere que a "má programação" hipotalâmica durante a amamentação contribui para o desenvolvimento da obesidade, como evidenciado pela resposta alimentar exacerbada ao neuropeptídeo Y (NPY) em descendentes de mães alimentadas com dietas hiperlipídicas. Essa programação resulta em uma ingestão alimentar significativamente maior em comparação aos controles, reforçando o impacto da nutrição materna na saúde metabólica a longo prazo (TAYLOR; POSTON, 2007).

A distribuição ideal de peso ao nascer deve ser considerada, não apenas em termos de morbidade e mortalidade imediatas, mas também em relação a resultados de longo prazo, como suscetibilidade a doenças crônicas relacionadas à dieta mais tarde na vida (CALKINS; DEVASKAR, 2011).

1.3 DANOS AS MACROMOLÉCULAS NA GESTAÇÃO

A nutrição durante a vida fetal e neonatal pode levar a distúrbios relacionados na idade adulta. Durante a gravidez, a geração fisiológica de espécies reativas de oxigênio está envolvida em uma variedade de processos de desenvolvimento que vão desde a maturação do oócito a implantação do embrião. Enquanto a superprodução anormal interrompe esses processos, resultando em falha reprodutiva. Além disso, o estresse oxidativo excessivo prejudica as funções maternas e placentárias e, eventualmente, resulta em perda fetal, retardo de crescimento intrauterino e diabetes mellitus gestacional (HUSSAIN *et al.*, 2021). Sabe-se, por exemplo, que uma dieta rica em carboidrato e gordura na gestação está associada a danos ao DNA nas mães e na sua prole, em especial na prole macho (WENG; SALAZAR, 2021).

As células do corpo estão expostas de forma contínua a agentes genotóxicos capazes de provocar danos à molécula de DNA, oriundos de fatores endógenos, como o metabolismo celular e/ou fatores exógenos, incluindo luzes ultravioleta (UV), alimentos, poluição, entre outros (WEEDEN; ASSELIN-LABAT, 2018). O DNA está vulnerável a vários tipos de lesões, algumas como, quebras de fita simples e dupla, sítios álcali-lábeis, ligações cruzadas entre DNA-DNA e DNA-proteína. O corpo, através do sistema de reparo contra essas lesões, garante a integridade genética através de complexos mecanismos que evitam alterações na sequência de bases do DNA (MAGENIS *et al.*, 2020).

A formação de radicais livres, como o radical hidroxila (OH) e o radical superóxido (O_2), pode ocorrer tanto por exposição a fatores externos quanto por processos bioquímicos endógenos. Esses radicais, caracterizados pela presença de elétrons desemparelhados, são altamente reativos e instáveis, podendo induzir danos a macromoléculas biológicas essenciais, como DNA, proteínas, carboidratos e lipídios. Na cadeia respiratória, durante a produção de energia nas mitocôndrias, pequenas quantidades de radicais livres são geradas, comprometendo a integridade celular. O acúmulo excessivo dessas espécies reativas de oxigênio (ERO), acontece principalmente nos complexos I e III, em um processo conhecido como estresse oxidativo (EO), e pode resultar em mutações e disfunções metabólicas. Em condições crônicas, como obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares, a capacidade celular de neutralizar o estresse oxidativo pode ser insuficiente, exacerbando a instabilidade genômica e contribuindo para a progressão de diversas patologias (BARBOSA *et al.*, 2010).

O desenvolvimento de síndrome metabólica, EO e a oxidação do DNA estão correlacionados com alto consumo de açúcar, como frutose, que implica em estados duradouros

de hiperglicemia, hiperinsulinemia e hiperlipidemia. Logo, acredita-se que o controle glicêmico seja essencial para evitar a oxidação do DNA (AJIBOYE *et al.*, 2016; MAGENIS *et al.*, 2020).

O aumento da glicose, em decorrências do consumo exagerado de carboidratos e açúcares na dieta ou por alterações metabólicas, como a que ocorre na corrente sanguínea de diabéticos, pode levar ao estado de hiperinsulinemia. O excesso de insulina sanguínea pode levar ao EO, com aumento de alterações genômicas (OTHMAN *et al.*, 2013).

As alterações habituais do metabolismo materno somadas ao sobrepeso ou obesidade pré- gestacional, podem gerar elevações nos processos inflamatórios e lipídicos sanguíneos, levando a grandes efeitos no desenvolvimento embrionário e fetal. Este excesso lipídico sanguíneo, principalmente os ácidos graxos saturados, ativam cascatas pró-inflamatórias, que podem afetar função mitocondrial, destino de células germinativas, impactando no desenvolvimento fetal e pós-natal. Todo esse mecanismo de programação fetal tem contribuído também para crescimento da obesidade infantil (HEERWAGEN *et al.*, 2010).

Apesar de pouco se saber sobre o papel do EO no crescimento fetal, estudos experimentais demonstraram bem o papel do balanço redox na modulação da expressão gênica e cascatas de sinalização celular. Espécies reativas de oxigênio são capazes de alterar a estrutura e as funções das proteínas celulares (alterações pela oxidação de resíduos de cisteína para formar ligações covalentes dissulfeto e sulfonamida cíclica) para regular a sinalização e expressão gênica e também as vias de transdução (LUO *et al.*, 2006).

A pesquisa de Luo *et al.* (2006) mostra que o equilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes durante a gravidez pode influenciar significativamente a pressão arterial e a reatividade vascular em ratos jovens. Esses achados sugerem que o EO materno pode ter um papel crítico no desenvolvimento cardiovascular da prole, afetando diretamente a regulação da pressão arterial e a função vascular na vida adulta. Indicam ainda que, as mitocôndrias, responsáveis pelo metabolismo energético e monitoramento da glicose no sangue, possuem DNA mais suscetível a danos causados por EROs do que o DNA nuclear. Esses danos sutis aumentam com o envelhecimento, contribuindo para o desenvolvimento de síndromes metabólicas e alterações relacionadas à idade, como a síndrome metabólica.

As pesquisas de Magenis *et al.* (2020) e Magenis *et al.* (2022) mostraram que alto consumo de frutose (um monossacarídeo) em camundongos na gestação e lactação levam à genotoxicidade e EO (concentração de nitrito, teor de sulfidrilas e atividade da superóxido dismutase) em tecidos periféricos e cerebrais, de prole feminina e masculina, além de distúrbios metabólicos e nutricionais.

O consumo materno de carboidratos pode ser uma causa importante na composição fetal, mas, os efeitos na prole causados por essa exposição a carboidratos ainda não estão bem estabelecidos (MAGENIS *et al.*, 2022). O estudo de Lineker *et al.* (2016), analisou os efeitos de uma alimentação rica em frutose (10%) sobre a mãe, placenta e a prole até os 6 meses de vida, visto que, os fetos que receberam a frutose materna, possuíram mais peso, aumentaram a insulina plasmática e triglicerídeos. Indicando que essas alterações metabólicas na prole na vida adulta foram devidas ao consumo materno de frutose.

Sendo assim, dentro do conceito de programação metabólica observa-se que estímulos adversos durante a gestação, podem alterar vias de desenvolvimentos e remodelar estruturas e funções teciduais no feto, causadas pela mãe. Resultando em problemas ao longo da vida da prole, dado que o desenvolvimento embrionário e fetal é composto por diferenciações celulares, crescimento, desenvolvimento e maturação de órgãos (DRAKE; WALKER, 2004; GUILLOTEAU *et al.*, 2010).

Infelizmente, ainda são escassos os trabalhos que relatam o consumo de maltodextrina e sacarose durante a gravidez e seus efeitos na prole com análises genéticas e bioquímicas. Dessa forma, apesar dos vários estudos em relação ao consumo de carboidratos na gestação, muitos dos efeitos que elas podem causar sobre o feto ainda não estão bem estabelecidos. Diante disso, este trabalho visa avaliar os efeitos genéticos e bioquímicos do consumo de maltodextrina e de sacarose sobre a prole de camundongos Swiss fêmeas tratadas durante a gravidez e lactação.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos genéticos e bioquímicos do consumo de maltodextrina e de sacarose em camundongos *Swiss* fêmeas tratadas durante a gravidez e lactação e na sua prole.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o consumo alimentar de fêmeas matrizes em relação ao consumo de maltodextrina e sacarose durante a cópula, gestação e lactação;
2. Quantificar o peso corporal de fêmeas matrizes e da prole (machos e fêmeas) em relação ao consumo de maltodextrina e sacarose durante a cópula, gestação e lactação;
3. Dosar a glicemia de jejum nas fêmeas matrizes e na prole (machos e fêmeas) em relação ao consumo de maltodextrina e sacarose durante a cópula, gestação e lactação;
4. Avaliar parâmetros de genotoxicidade, em sangue, fígado, córtex e hipocampo nas fêmeas matrizes e na prole (machos e fêmeas) em relação ao consumo de maltodextrina e sacarose durante a cópula, gestação e lactação;
5. Investigar a mutagenicidade em medula óssea nas fêmeas matrizes e na prole (machos e fêmeas) em relação ao consumo de maltodextrina e sacarose durante a cópula, gestação e lactação;
6. Determinar a atividade da cadeia transportadora de elétrons no fígado, córtex e hipocampo nas fêmeas matrizes e na prole (machos e fêmeas) em relação ao consumo de maltodextrina e sacarose durante a cópula, gestação e lactação;
7. Avaliar estresse oxidativo no córtex da prole (machos e fêmeas) em relação ao consumo de maltodextrina e sacarose durante a cópula, gestação e lactação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, além das recomendações para o uso de animais do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), lei Arouca nº 11.794/2008. Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais da Universidade do Extremo Sul Catarinense, com o protocolo 067/2021 (anexo A). Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas com 60 dias de vida, as quais receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) na garrafa de hidratação durante a cópula (7 dias), gestação (21 dias) e lactação (21 dias), totalizando 49 dias de experimento. Para o período de cópula foram utilizados camundongos Swiss machos de 60 dias de vida para procriação (os machos foram mantidos com as fêmeas por apenas 7 dias). Estes animais foram utilizados para se atingir o número amostral da prole (machos e fêmeas) em cada grupo de tratamento. Os animais foram obtidos do Centro de Experimentação Animal (CEA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense e foram alojados em caixas de polietileno, com comida e água controlada e mantidos em um ciclo de 12 horas claro - escuro (07:00 às 19:00), com temperatura controlada de $23 \pm 1^\circ\text{C}$.

Foram copulados 10 casais por grupo, com o objetivo de garantir um número mínimo de 5 fêmeas grávidas, considerando possíveis perdas gestacionais ou ausência de prenhez. A proporção utilizada foi de 1 fêmea para 1 macho, alocados em caixas individuais. Ao todo, 30 casais (30 fêmeas e 30 machos) foram utilizados, resultando em 6 fêmeas grávidas por grupo, totalizando 18 fêmeas prenhes que foram acompanhadas ao longo do tratamento (água, maltodextrina e frutose). As fêmeas que receberam o tratamento e não engravidaram foram submetidas à eutanásia.

Cabe ressaltar que os machos permaneceram com as fêmeas apenas durante o período de acasalamento (7 dias). Após esse período, os machos dos grupos que receberam maltodextrina ou sacarose foram eutanasiados, uma vez que essas substâncias podem interferir em parâmetros bioquímicos, inviabilizando sua reutilização.

A partir dos animais nascidos da prole, foi obtido um total de 24 fêmeas e 24 machos por grupo, resultando em 144 descendentes, sendo 72 fêmeas e 72 machos no total. Esses animais foram distribuídos entre as análises de ensaio cometa, teste de micronúcleos,

estresse oxidativo e avaliação da cadeia transportadora de elétrons, de forma a garantir 8 proles fêmeas e 8 proles machos por tipo de análise.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS E DESENHO EXPERIMENTAL

As fêmeas foram divididas em três grupos experimentais e receberam, por via oral, água potável (controle), maltodextrina ou sacarose, ambas nas concentrações de 10%/L, fornecidas *ad libitum* por meio das garrafas de hidratação. A administração ocorreu ao longo de todo o período experimental, abrangendo as fases de cópula (7 dias), gestação (aproximadamente 21 dias em camundongos) e lactação (também com duração média de 21 dias), totalizando 49 dias de exposição.

Foram inicialmente alocados 10 casais por grupo. No entanto, conforme descrito anteriormente, o número de fêmeas efetivamente acompanhadas durante a gestação e lactação foi de 6 por grupo. Os grupos experimentais foram organizados da seguinte forma:

- G1 – Controle negativo: fêmeas que receberam apenas água durante todo o período experimental.
- G2 – Maltodextrina 10%/L: fêmeas que receberam maltodextrina durante a cópula, gestação e lactação.
- G3 – Sacarose 10%/L: fêmeas que receberam sacarose durante a cópula, gestação e lactação.

Com o objetivo de avaliar se o consumo de maltodextrina e sacarose afeta a estabilidade genômica das fêmeas gestantes, foram realizadas análises de genotoxicidade em dois momentos distintos:

1. Antes da cópula – ou seja, antes da introdução dos machos;
2. Após o desmame da prole – 21 dias após o nascimento dos filhotes.

Durante todo o período experimental, as fêmeas foram pesadas na gestação (14º dia) e lactação (21º dia). Em ambos os momentos de coleta, foi realizada retirada de sangue por incisão na ponta da cauda, sem necessidade de eutanásia. Após a coleta, foi aplicado antisséptico local para favorecer a cicatrização. As amostras de sangue foram utilizadas para o Ensaio Cometa. Adicionalmente, durante a gestação (14º dia) e lactação (21º dia), foram realizadas coletas de sangue para análise da glicemia de jejum.

No momento do desmame, após a última coleta de sangue, as fêmeas foram submetidas à eutanásia para a coleta de medula óssea, utilizada na realização do teste de micronúcleos. Também foram coletados tecidos como fígado, córtex e hipocampo para análises genéticas e bioquímicas.

Vale destacar que os machos permaneceram com as fêmeas apenas durante o período de acasalamento, que durou 7 dias. Após esse período, os machos dos grupos que receberam maltodextrina ou sacarose foram submetidos à eutanásia, uma vez que essas substâncias podem alterar parâmetros bioquímicos, inviabilizando sua reutilização em estudos posteriores.

Após o desmame das proles (21 dias após o nascimento), as fêmeas matrizes foram eutanasiadas para a realização de análises genéticas e bioquímicas. Em seguida, os filhotes foram organizados de acordo com os grupos maternos de tratamento. As proles foram então distribuídas entre as diferentes análises experimentais — Ensaio Cometa, Teste de Micronúcleos, Estresse Oxidativo e Avaliação da Cadeia Transportadora de Elétrons — garantindo-se um número de 8 descendentes fêmeas e 8 descendentes machos por tipo de análise. No total, foram obtidos 144 animais da prole, sendo 72 fêmeas e 72 machos. Os machos e as fêmeas ficaram em caixas separadas conforme os sexos.

Os animais da prole foram distribuídos em três grupos experimentais, de acordo com o tratamento materno recebido durante a gestação e lactação:

- Grupo P1 – Controle negativo: prole de machos e fêmeas provenientes de mães que receberam apenas água durante a gestação e lactação;
- Grupo P2 – Maltodextrina 10%: prole de machos e fêmeas provenientes de mães que receberam solução de maltodextrina a 10% durante a gestação e lactação;
- Grupo P3 – Sacarose 10%: prole de machos e fêmeas provenientes de mães que receberam solução de sacarose a 10% durante a gestação e lactação.

A prole (machos e fêmeas) foi acompanhada até os 30 dias de vida, com coletas de sangue realizadas em dois momentos distintos:

1. Aos 21 dias de vida (pós-desmame), com o objetivo de avaliar os efeitos da exposição durante o período de lactação;
2. Aos 30 dias de vida, correspondendo à fase jovem, para verificar possíveis alterações relacionadas à exposição gestacional e lactação.

Nesses dois momentos, as coletas de sangue foram realizadas por meio de uma pequena incisão na ponta da cauda, procedimento que não exigiu eutanásia. Após a coleta, foi aplicado antisséptico local para favorecer a cicatrização. As amostras de sangue foram utilizadas para a realização do Ensaio Cometa e para análise da glicemia de jejum.

Após a última coleta, aos 30 dias de vida, os animais foram submetidos à eutanásia para a coleta de tecidos — fígado, córtex cerebral e hipocampo — destinados a análises genéticas e bioquímicas.

A escolha desses tecidos se deu por suas respectivas relevâncias fisiológicas. O fígado foi selecionado por ser o principal órgão responsável pela metabolização de carboidratos e pela regulação de processos metabólicos; córtex cerebral por estar associado a funções cognitivas e alterações neuroquímicas; hipocampo devido ao seu papel fundamental na memória, aprendizado e vulnerabilidade ao estresse oxidativo e processos neuroinflamatórios. Todas as etapas estão descritas na figura 2.

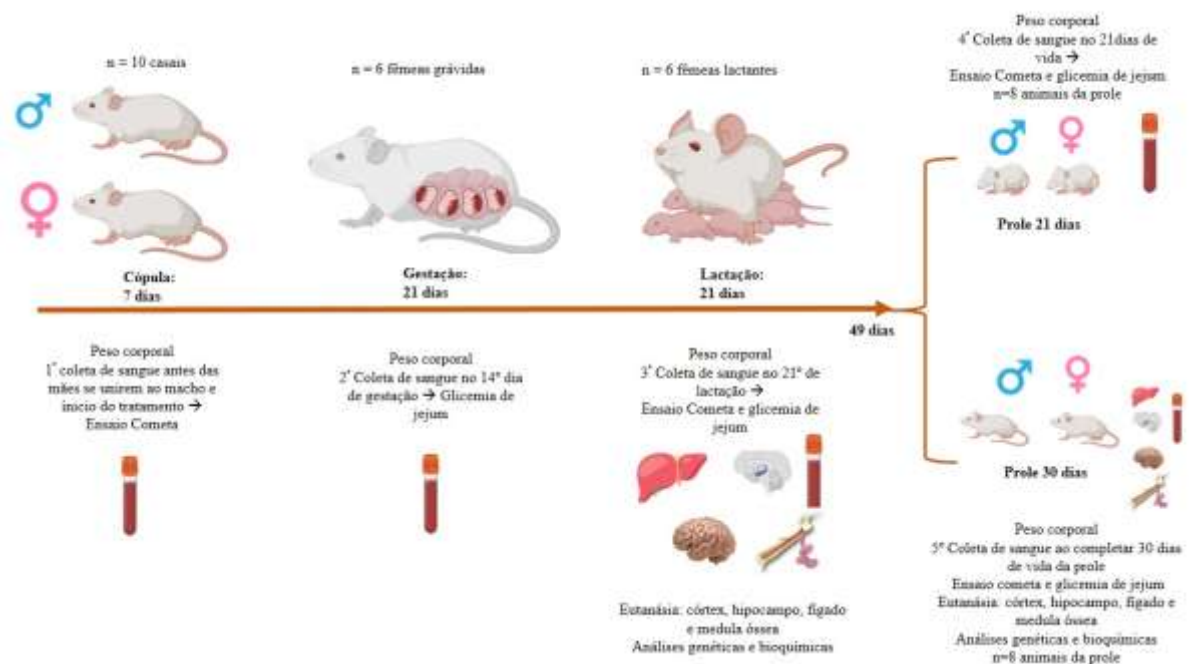


Figura 2. Desenho experimental e linha do tempo. Fonte: Do autor, 2025.

3.3 TRATAMENTOS

3.3.1 Maltodextrina e sacarose

Foram oferecidos água potável, maltodextrina ou sacarose nas doses de 10%/L à vontade aos casais e fêmeas (Grupos G1 a G3) nas garrafas de hidratação, durante o período de

cópula (7 dias), gestação, que em camundongos dura em média 21 dias, e período de lactação, que tem o mesmo tempo de duração, diariamente, totalizando 49 dias. A prole não recebeu nenhum tratamento. Estas dosagens foram escolhidas de acordo com dados descritos previamente na literatura (KENDIG *et al.*, 2014).

Os animais continuaram recebendo durante o experimento a ração animal que fornece 3,36 kcal/g, enquanto que o tratamento com maltodextrina forneceu 3,80 kcal/mL e sacarose 3,80 kcal/mL.

3.3.1.1 Preparo da solução de maltodextrina e sacarose

A maltodextrina (Atletica Nutrition) e a sacarose (Sigma Aldrich) foram dissolvidas em água potável na concentração 10%/L (KENDIG *et al.*, 2014). Os animais receberam diariamente essa solução.

3.4 PESO CORPORAL E CONSUMO ALIMENTAR DOS ANIMAIS

Os animais, fêmeas matrizes, foram pesados ao longo de todo o experimento conforme seus períodos (antes da cópula, 14º dia gestação e 21º dia lactação). O consumo alimentar (comida e solução de maltodextrina e sacarose) foi calculada semanalmente, pela pesagem da quantidade total de alimentos (g) e líquidos (mL) fornecida aos animais e subtraindo a comida (g) e líquidos (mL) do remanescente na gaiola e garrafa de hidratação durante todo o experimento (DINIZ *et al.*, 2004, 2005).

Foi calculado também a média das calorias diária do dia através do consumo da ração animal que fornece 3,36 kcal/g, do tratamento com maltodextrina que forneceu 3,80 kcal/mL e de sacarose que forneceu 3,80 kcal/mL.

A prole (machos e fêmeas) foi pesada com 21 e 30 dias de vida durante o experimento.

3.5 GLICEMIA DE JEJUM

Para avaliar a glicemia de jejum o sangue foi coletado através de uma pequena incisão na ponta da cauda dos animais com jejum prévio de 6 horas (AYALA *et al.*, 2010), e a concentração de glicose sanguínea foi mensurada através de um glicosímetro para determinação

da glicemia de jejum (fêmeas matrizes 14º dia de gestação, 21º dia de lactação e em sua prole com 21 e 30 dias).

3.6 ENSAIOS DE GENOTOXICIDADE

3.6.1 Ensaio Cometa alcalino

O Ensaio Cometa na versão alcalina foi realizado conforme descrito por (COLLINS *et al.*, 2023), seguindo as diretrizes MIRCA publicadas recentemente (MØLLER *et al.*, 2020). Resumidamente, utilizam-se núcleos embebidos numa camada fina de agarose em lâminas. Todas as proteínas celulares são removidas por lise celular. O DNA sofre desnaturação em condições alcalinas, após o que, é aplicado um campo elétrico (eletroforese) para permitir que os fragmentos de DNA migrem a partir do núcleo. Na sua versão alcalina (pH>13), o ensaio detecta quebras simples e duplas, locais de reparação incompleta e sítios alcali-lábeis. O sangue total periférico será coletado através de 1 tubo com EDTA. As células do sangue (alíquotas de 5 µL) e as células obtidas da dissociação de tecidos (alíquotas de 10 µL) foram embebidas em agarose de baixo ponto de fusão (0.75%, w/v, 115 µL ou 110 µL, respectivamente). A mistura é adicionada a uma lâmina de microscópio pré-coberta com agarose de fusão normal (1,5%) em dois pontos (50 µL em cada ponto), coberta posteriormente com duas lamínulas (1 em cada ponto), e levada então à geladeira por aproximadamente 5 minutos a 4°C para solidificação. Logo após, as lamínulas são cuidadosamente retiradas e as lâminas são imersas em tampão de lise (2,5M NaCl, 100mM EDTA e 10mM Tris, pH 10,0-10,5, com adição na hora do uso de 1% de Triton X – 100 e 10% de DMSO) a 4°C por um período mínimo de 1 hora e máximo de 1 semana. As lâminas são incubadas em solução alcalina (NaOH 300mM e EDTA 1mM, pH>13) por 20 minutos para desdobramento do DNA, seguido de eletroforese a ~ 1V/cm por aproximadamente 20 minutos. Todas estas etapas são realizadas sob luz indireta fraca amarela. Posteriormente as lâminas foram neutralizadas com 0,4M Tris (pH 7,5) e, ao final, o DNA corado com Syber Gold (1:10.000) (Invitrogen, EUA) para posterior análise. Para avaliação dos danos, as lâminas são visualizadas em microscópio de fluorescência com ampliação de 200x utilizando o programa Comet Assay IV (Perceptive Instruments, UK), onde foram avaliadas 100 células por indivíduo. As células são classificadas de forma automática quanto às proporções do tail length (consiste na distância do meio do núcleo até o final da cauda em µm) e tail moment (tail length x intensidade da fluorescência da cauda), através do Tail Intensity (%). Foram utilizados controles negativos e positivos para cada teste de eletroforese a fim de

assegurar a confiabilidade do procedimento. Todas as lâminas foram codificadas para análise às cegas.

3.6.2 Teste de Micronúcleos (MN)

O teste de micronúcleos foi realizado de acordo com o programa Gene-Tox da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (MAVOURNIN *et al.*, 1990; KRISHNA; HAYASHI, 2000). O mesmo seguiu o protocolo sob número 474 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (a "OCDE"), atualizado em 2016. Sendo aceito e frequentemente revisado por agências internacionais e comitês de harmonização (OCDE, 2016).

Para a realização do teste foi realizada a extração da medula óssea. Após a extração, um esfregaço foi preparado diretamente na lâmina com uma gota de soro bovino fetal. As lâminas foram coradas com Giemsa 5%, secas e codificadas para análises às cegas. Como uma medida de toxicidade na medula óssea, a relação entre eritrócitos policromáticos e eritrócitos normocromáticos (EPC/ENC) foi analisada em 500 eritrócitos/animal. A incidência de micronúcleos (MN) foi observada em 4000 EPCs para cada animal (ou seja, 2000 a partir de cada uma das duas lâminas preparadas em duplicata), usando microscópio óptico de luz branca com ampliação de 1000x. O número médio de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) individual foi utilizado como unidade experimental.

3.7 ATIVIDADE DA CADEIA TRANSPORTADORA DE ELÉTRONS

3.7.1 Determinação da atividade da enzima succinato desidrogenase

Para a medida da atividade da enzima succinato desidrogenase, ao meio de incubação contendo tampão fosfato de potássio 62,5 mM pH 7,4, Triton X-100 0,1 %, succinato de sódio 1 mM e 2,6-dicloroindofenol (DCIP) 9 μ M, foi adicionada amostra contendo cerca de 80 a 140 μ g de proteína. Os sistemas foram pré-incubados por 30 minutos a 30°C em banho-maria e, após, ocorrerá a adição de azida sódica 4,3 mM, rotenona 7 μ M, metassulfato de fenazina 1 mM e DCIP 42 μ M. A redução do DCIP é determinada em 600 nm durante 5 minutos a 25°C (Fischer *et al.*, 1985). A atividade foi expressa em μ M (min.mg de proteína)⁻¹.

3.7.2 Determinação da atividade do Complexo I (NADH desidrogenase)

O meio de incubação foi constituído de fosfato de potássio (100 mM, pH 7,4), FeCN (10 mM) e Rotenona (1,0 mM). A reação foi iniciada pela adição de 14 mM de NADH e as absorbâncias registradas por 3 minutos a 420 nm. A Atividade do complexo I foi medida por meio da determinação da taxa de redução do FeCN dependente de NADH (CASSINA; RADI, 1996).

3.7.3 Determinação da atividade do Complexo II (succinato: DCIP oxirredutase)

O meio de incubação foi constituído de fosfato de potássio (40 mM, pH 7,4), succinato de sódio (16 mM) e DCIP (8 μ M). Inicialmente foi incubado 40-80 μ g de proteínas do homogeneizado a 30°C por 20 minutos. Depois, foram adicionados ao meio 4 mM de azida sódica e 7 μ M de rotenona, a reação iniciou após a adição de 40 μ M de DCIP. As absorbâncias foram registradas por 5 minutos a 600 nm. A atividade do complexo II foi medida pela diminuição da absorbância causada pela redução do DCIP (FISCHER et al., 1985).

3.7.4 Determinação da atividade do Complexo II+CoQ+III (succinato: citocromo c oxirredutase)

Foram pré-incubados 40-80 μ g de proteínas do homogeneizado a 30°C por 30 minutos em meio de reação, constituído de fosfato de potássio (40 mM, pH 7,4), contendo succinato de sódio (16 mM). Em seguida, foram adicionados 4 mM de azida sódica e 7 μ M de rotenona, a reação iniciou com a adição de 0,6 μ g/mL de citocromo c. As absorbâncias foram registradas por 5 minutos a 550 nm. A atividade do complexo II+CoQ+III foi medida pelo aumento da absorbância causado pela redução do citocromo c (Fischer et al., 1985).

3.7.5 Determinação da atividade do Complexo IV (citocromo c oxidase)

O meio de incubação continha tampão fosfato de potássio (10 mM, pH 7,0), dodecil-maltisídeo (0,6 mM) e 10-20 μ g de proteínas (homogeneizado). A reação foi iniciada com a adição de 0,7 μ g de citocromo c reduzido. A atividade do complexo IV foi medida a 25°C por 10 minutos. A atividade da enzima citocromo c oxidase foi medida pelo decréscimo na

absorbância devido à oxidação de citocromo c previamente reduzido. As leituras foram feitas a 550 nm (RUSTIN et al., 1994).

3.8 ESTRESSE OXIDATIVO

3.8.1 Dosagem de proteínas

Foi realizada através do método modificado de Lowry *et al.* (1951), utilizando-se albumina bovina como padrão. O princípio do método é baseado na redução do reagente Folin-Ciocalteu na presença do catalisador cobre (II) quando reage com as proteínas de uma amostra. Dessa forma, as amostras foram homogeneizadas na proporção 1:10, em tampão fosfato de sódio 20 mM + KCl 140 mM pH 7,4. Para posterior centrifugação a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C. Para a curva padrão foi utilizada albumina bovina 1mg/mL, 1mL de reativo C formado pela mistura dos reagentes A, B1 e B2 (100:1:1) e água. Para as amostras foi utilizado volume de 10 uL, 1 mL de reativo C e 190 uL de água. Após pipetar todos os reagentes, foi misturado, utilizando vórtex, e incubado por 10 min a temperatura ambiente. Logo após, foi adicionado no escuro 100 uL do reagente Folin-Ciocalteu 1N em todas as amostras e na curva, agitado no vórtex novamente e incubado novamente por 20 min no escuro a temperatura ambiente. Após incubação parte do volume foi colocado em placa de 96 poços para realização da leitura no spectramax a 650 nm. Os valores são expressos em mg.

3.8.2 Dosagem do conteúdo de sulfidrilas

Foi determinado o conteúdo de sulfidrilas de acordo com método adaptado de Aksenov e Markesbery (2001), sendo o princípio do método baseado na redução do reagente de cor DTNB por tióis, gerando o ânion 2-nitro-5-tiobenzoato (TNB²⁻). Dessa forma, após homogeneização, em uma placa de Elisa, foi pipetado 245 µL Tampão PBS com EDTA 1 M e 5 µL de DTNB no branco reagente. Para as amostras foi pipetado 22 µL de amostra, 223 µL de Tampão PBS com EDTA 1 M e 5 µL de DTNB, para a determinação do conteúdo de sulfidrilas. Após pipetar o DTNB, deixou-se a placa em temperatura ambiente, protegida da luz. Após os 15 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 412 nm. Os resultados foram expressos em nmols de TNB/mg de proteína.

3.8.3 Medida da oxidação de 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH)

A produção de espécies reativas foi determinada de acordo com método de Lebel, Ischiropoulos e Bondy (1992). Dessa forma, amostras foram previamente homogeneizadas, adicionando diacetato do DCF, sendo as alíquotas incubadas durante 30 minutos à 37 °C. No meio intracelular, esterases clivam o grupamento acetato do DCFH-DA, gerando a forma reduzida DCFH. Dessa forma, espécies reativas de oxigênio realizam a oxidação de dois elétrons de DCFH, produzindo o produto fluorescente 2',7'-diclorofluoresceína (DCF) (LEE *et al.*, 2009; TAMPO *et al.*, 2003). A fluorescência foi determinada utilizando comprimentos de onda de 488nm (excitação) e 525 nm (emissão), sendo a curva de calibração realizada utilizando-se DCF padrão (0-10 µM). Os resultados foram expressos como µmol de DCF.mg de proteína.

3.8.4 Medida dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS)

Para analisar os níveis de TBA-RS, as amostras foram homogeneizadas na proporção 1:10, em tampão fosfato de sódio 20 mM + KCl 140 mM pH 7,4. Seguiram com a centrifugação do homogenato a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C. Foi pipetado 100 µL de amostra, acrescentando-se 200 µL de TCA 10% e 300 de TBA 0,67% em cada tubo do tipo eppendorf. Posteriormente, foram tampados os mesmos com papel alumínio e serão levados a banho-maria fervente por duas horas. Após esse período, deixou-se esfriar as amostras e então adiciona-se 400 µL de butanol. Em seguida, passa-se cada tubo do tipo eppendorf em vórtex por exatos 20 segundos, seguidos de centrifugação a 5000 rpm por 3 minutos. Pipeta-se a fase superior, de cor rosa, em cubetas para realizar a leitura em fluorímetro, com medidas excitação em 515 nm e emissão 553 nm. A curva de calibração foi feita com concentração de 0 à 6 nmol/m, utiliza-se solução B, tampão de homogeneização, TCA 10% e TBA 0,67%. Os resultados foram expressos como nmol de equivalentes de malondialdeído.mg de proteína (ESTERBAUER; CHEESEMAN, 1990; YAGI, 1998).

3.8.5 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

Foram homogeneizadas as amostras na proporção 1:10, em tampão fosfato de sódio 20 mM + KCl 140 mM pH 7,4, depois foram centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C, retirado o sobrenadante para armazenamento. Em uma placa de Elisa, pipeta-se 190 µL de

tampão glicina e 5 µL de catalase no branco; 5 µL de amostra, 185 µL de tampão glicina e 5 µL de catalase para a primeira amostra; 10 µL de amostra, 180 µL de tampão glicina e 5 µL de catalase para a segunda amostra; 15 µL de amostra, 175 µL de tampão glicina e 5 µL de catalase para a terceira amostra, sendo assim, realizada uma leitura em triplicada de cada amostra. Em seguida foi realizado a leitura pontual em espectrofotômetro a 480 nm. Após isso, foi pipetado 5 µL de adrenalina em todos os poços. Posteriormente, foi realizado uma nova leitura em espectrofotômetro a 412 nm durante 20 minutos, com leitura de 40 em 40 segundos. A atividade da enzima expressa foi expressa em U/mg de proteína (unidade de atividade da SOD por mg de proteína) (BANNISTER; CALABRESE, 1987).

3.8.6 Atividade da Catalase (CAT)

A atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com (AEBI, 1984). Os conteúdos cerebrais foram homogeneizados na proporção 1:10, em no tampão fosfato de sódio 20 mM + KCl 140 mM ph 7,4. Em seguida, foi realizada a centrifugação a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C, e coleta-se o sobrenadante. Zera-se o equipamento com 620 µL de branco. Em seguida, pipetou-se 50 µL de amostra e 5 µL de triton 10% em tubos do tipo eppendorf. Foi agitado os tubos em vórtex, deixando-os em gelo por 15 minutos para liberação da catalase. Posteriormente, pipeta-se 20 µL de amostra em cubetas de quartzo e 600 µL do meio, a leitura foi feita por espectrofotômetro a 240 nm durante 3 minutos de 30 em 30 segundos. A atividade da CAT cai ser expressa em U/mg de *proteína* (unidade de atividade da CAT por mg de proteína).

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média ± desvio padrão da média. Foi analisado as variáveis quanto a normalidade da distribuição usando o teste de Bartlett's. O consumo alimentar, peso corporal e teste de micronúcleos das fêmeas matrizes foi realizado Kruskal-Wallis com *post hoc* Dunn's. A glicemia de jejum, cometa alcalino, atividade da cadeia transportadora de elétrons, dosagens de estresse oxidativo das fêmeas matrizes e prole (machos e fêmeas), foi realizado ANOVA com *post hoc* de Tukey. O peso corporal da prole foi realizado ANOVA com *post hoc* de Tukey e o teste de micronúcleos foi realizado Kruskal-Wallis com *post hoc* Dunn's. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando os valores de P forem menores que 0,05 ($p < 0,05$), utilizando o programa GraphPad Prism 5.0.

4. RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DAS FÊMEAS MATRIZES

4.1.1 Consumo alimentar, peso corporal e glicemia de jejum

A tabela 1 apresenta dados sobre a ingestão alimentar e peso corporal de fêmeas matrizes no grupo água, maltodextrina e sacarose, durante o período de cópula, gestação e lactação.

Tabela 1. Ingestão de líquidos (mL), ração animal (g) e peso corporal de camundongos Swiss fêmeas que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação.

| Grupos | Líquido (mL) | Ração (g) | Peso (g) |
|-----------------|--------------|------------|------------|
| Cópula | | | |
| Água | 6,6 ± 1,4 | 4,5 ± 0,3 | 25,4 ± 1,5 |
| Maltodextrina | 9,7 ± 3,2* | 5,0 ± 0,3 | 25,8 ± 1,9 |
| Sacarose | 9,9 ± 4,5* | 4,7 ± 0,4 | 24,4 ± 2,0 |
| Gestação | | | |
| Água | 9,8 ± 1,4 | 6,6 ± 0,8 | 32,2 ± 0,9 |
| Maltodextrina | 12,1 ± 1,7* | 6,6 ± 0,8 | 35,1 ± 3,1 |
| Sacarose | 11,9 ± 1,9* | 6,3 ± 1,5 | 33,5 ± 4,9 |
| Lactação | | | |
| Água | 25,1 ± 8,1 | 14,9 ± 2,5 | 29,7 ± 1,7 |
| Maltodextrina | 30,8 ± 11,1 | 16,2 ± 2,6 | 32,1 ± 3,7 |
| Sacarose | 29,4 ± 12,5 | 17,2 ± 3,1 | 31,3 ± 5,2 |

Os dados estão expressos como média ± desvio padrão da média do consumo ingerido por dia de troca e peso corporal por grupo (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo controle (água) no mesmo período (p<0,05, Kruskal-Wallis com *post hoc* Dunn's). Fonte: Do Autor, 2025.

Durante a cópula, foi observado em relação a ingestão de líquidos, que os grupos que receberam maltodextrina e sacarose apresentaram um consumo significativamente maior em comparação ao grupo controle. Esse padrão de consumo elevado foi mantido durante a gestação, com o grupo maltodextrina e o grupo sacarose, consumindo mais líquido em contraste com o grupo controle (p<0,05). Na lactação, o consumo de líquidos continuou elevado, porém sem significância estatística. Em relação ao consumo de ração, não houve diferenças significativas entre os grupos em nenhum dos períodos. Os pesos corporais dos animais também não mostraram variações significativas entre os grupos.

A figura 3 apresenta o consumo calórico das fêmeas matrizes, durante cópula, gestação e lactação. Foi observado que o grupo maltodextrina e sacarose apresentaram um

aumento do consumo calórico diário em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) em todos os períodos de tempo. Não houve diferença estatisticamente significativas entre o grupo maltodextrina e sacarose.

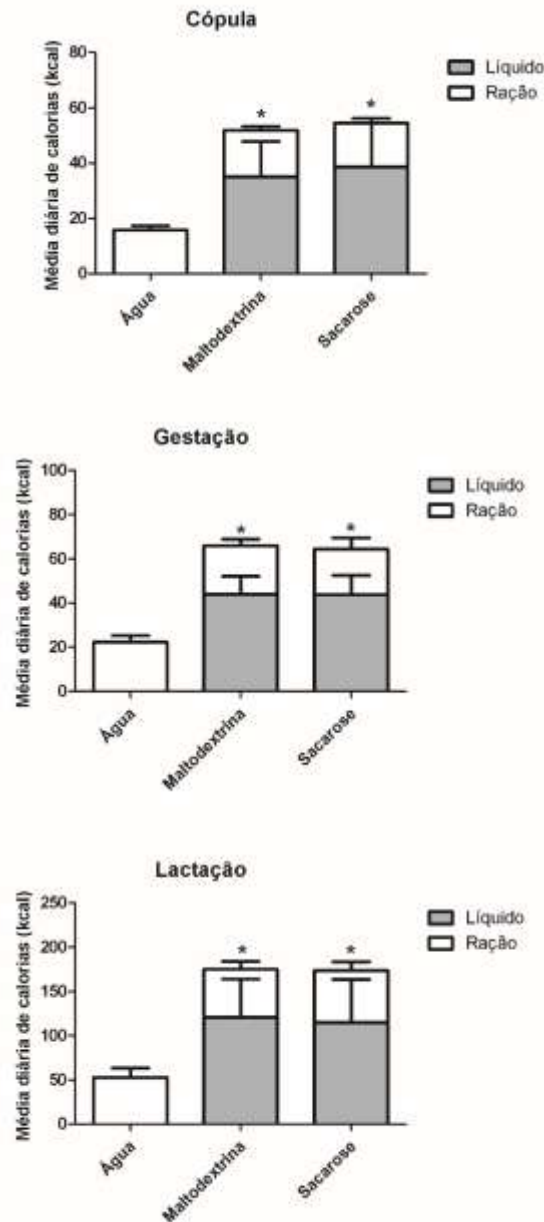


Figura 3. Consumo calórico (kcal) de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média das calorias diárias ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo controle (água) no mesmo período $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis com *post hoc* Dunn's). Fonte: Do autor, 2025.

Tabela 2. Glicemia de jejum (mg/dL) de camundongos Swiss fêmeas que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação.

| | Grupos | Glicose (mg/dL) |
|-----------------|---------------|-----------------|
| Gestação | | |
| | Água | 122,0 ± 7,7 |
| | Maltodextrina | 132,8 ± 18,9 |
| | Sacarose | 149,5 ± 19,5* |
| Lactação | | |
| | Água | 102,9 ± 2,1 |
| | Maltodextrina | 110,0 ± 8,0 |
| | Sacarose | 109,5 ± 7,0 |

Os dados estão expressos como média ± desvio padrão da média da glicemia de jejum nos diferentes períodos (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo controle (água) no mesmo período (p<0,05, ANOVA seguido pelo *post hoc* de Tukey). Fonte: Do Autor, 2025.

A Tabela 2 apresenta os valores de glicemia de jejum das fêmeas matrizes durante a gestação e lactação. Na gestação, o grupo que recebeu sacarose apresentou uma glicemia de jejum significativamente mais elevada em comparação ao grupo controle (p<0,05). Durante a lactação não houve diferenças significativas entre os grupos.

4.1.1 Genotoxicidade

4.1.1.1 Ensaio Cometa

Foi realizado o ensaio cometa em sangue periférico, fígado, córtex e hipocampo nas fêmeas matrizes (figura 4 e 5). Em sangue periférico (figura 4) foi realizado o ensaio pré-cópula e pós-lactação nas fêmeas matrizes. Foi observado um aumento de dano ao DNA em todos os grupos (água, maltodextrina e sacarose) no período pós-tratamento (gestação e lactação) em relação aos mesmos grupos na pré-cópula (p<0,05). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nos dois períodos de investigação.

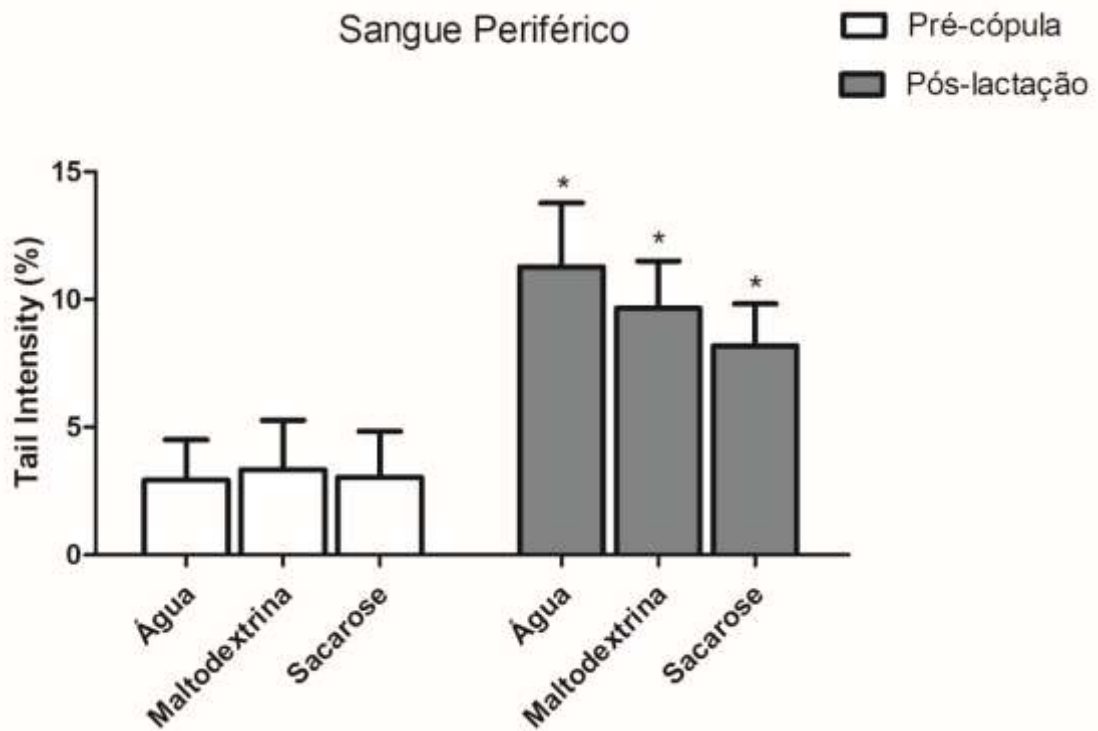


Figura 4. Tail Intensity (%) de sangue total periférico de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao período pré-tratamento ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do Autor, 2025.

A figura 5 mostra os resultados do ensaio cometa no fígado, córtex e hipocampo das fêmeas matrizes. No fígado e no hipocampo, não foram observadas diferenças significativas no ensaio cometa entre os grupos que receberam água, maltodextrina e sacarose. No córtex, foi observado aumento de dano ao DNA no grupo maltodextrina em relação ao grupo água ($p < 0,05$). Não foi encontrada diferença significativa ao comparar o grupo que recebeu sacarose em relação ao controle.

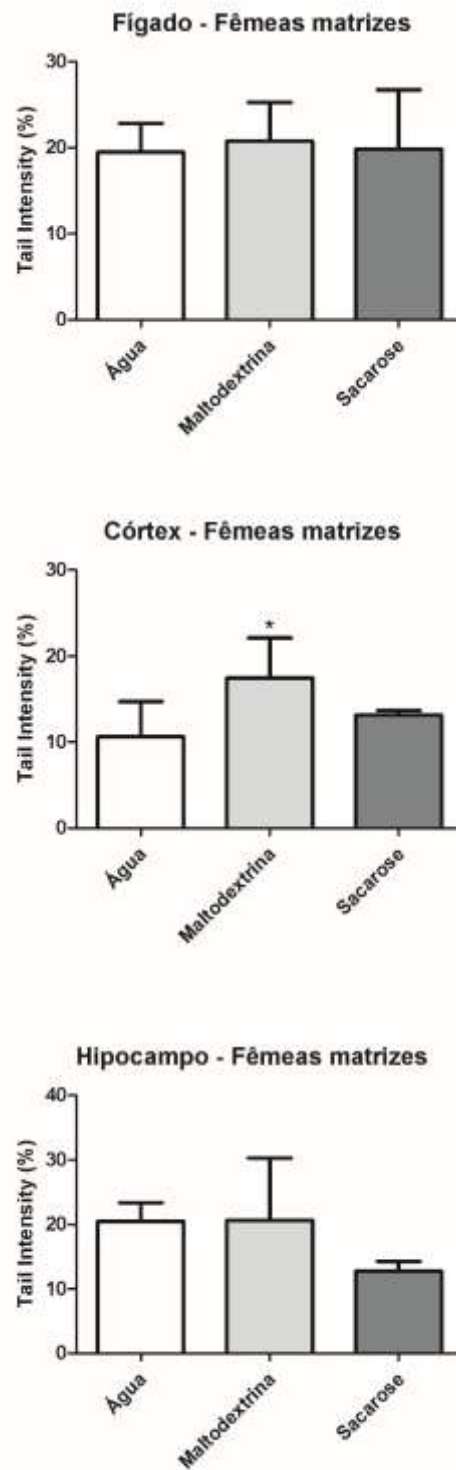


Figura 5. Tail Intensity (%) de sangue total periférico de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do Autor, 2025.

4.1.1.2 Teste de Micronúcleos

A tabela 3 apresenta os resultados do teste de micronúcleos, que avaliou se o consumo de maltodextrina e sacarose nas fêmeas matrizes provoca efeitos mutagênicos nas células de medula óssea no período pós-gestação.

Tabela 3. Número de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) observados nas amostras de medula óssea de fêmeas matrizes que receberam água ou maltodextrina ou sacarose.

| Tratamento | EPCMn | EPC/ENC |
|---------------|------------|-------------|
| Água | 0.75 ± 0.9 | 0.51 ± 0.00 |
| Maltodextrina | 2.7 ± 1.1* | 0.53 ± 0.01 |
| Sacarose | 1.0 ± 0.7 | 0.51 ± 0.01 |

Foram analisadas 4000 células por amostra e estão demonstradas na tabela como média ± desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água (p< 0.05, Kruskal-Wallis com *post hoc* Dunn's). Fonte: Do Autor, 2025.

Foram observadas diferenças estatisticamente significativas de micronúcleos em EPC nas fêmeas tratadas com maltodextrina em relação ao grupo água (p<0,05). Não houve diferença significativa em relação ao grupo sacarose. Em relação à proporção EPC/ENC, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, demonstrando que a produção de eritrócitos está ocorrendo normalmente na medula óssea, sem indícios de citotoxicidade.

4.1.2 Cadeia respiratória mitocondrial de fêmeas matrizes

Foi realizada análise da atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no fígado, córtex e hipocampo de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação.

No fígado (figura 6), foi observado um aumento da atividade do complexo I no grupo maltodextrina e sacarose em relação ao grupo água (p<0,05). No complexo II, não houve diferença estatisticamente significativa. A atividade do complexo II-III foi menor no grupo sacarose em relação ao grupo água (p<0,05). Em relação a atividade do complexo IV e da SDH, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

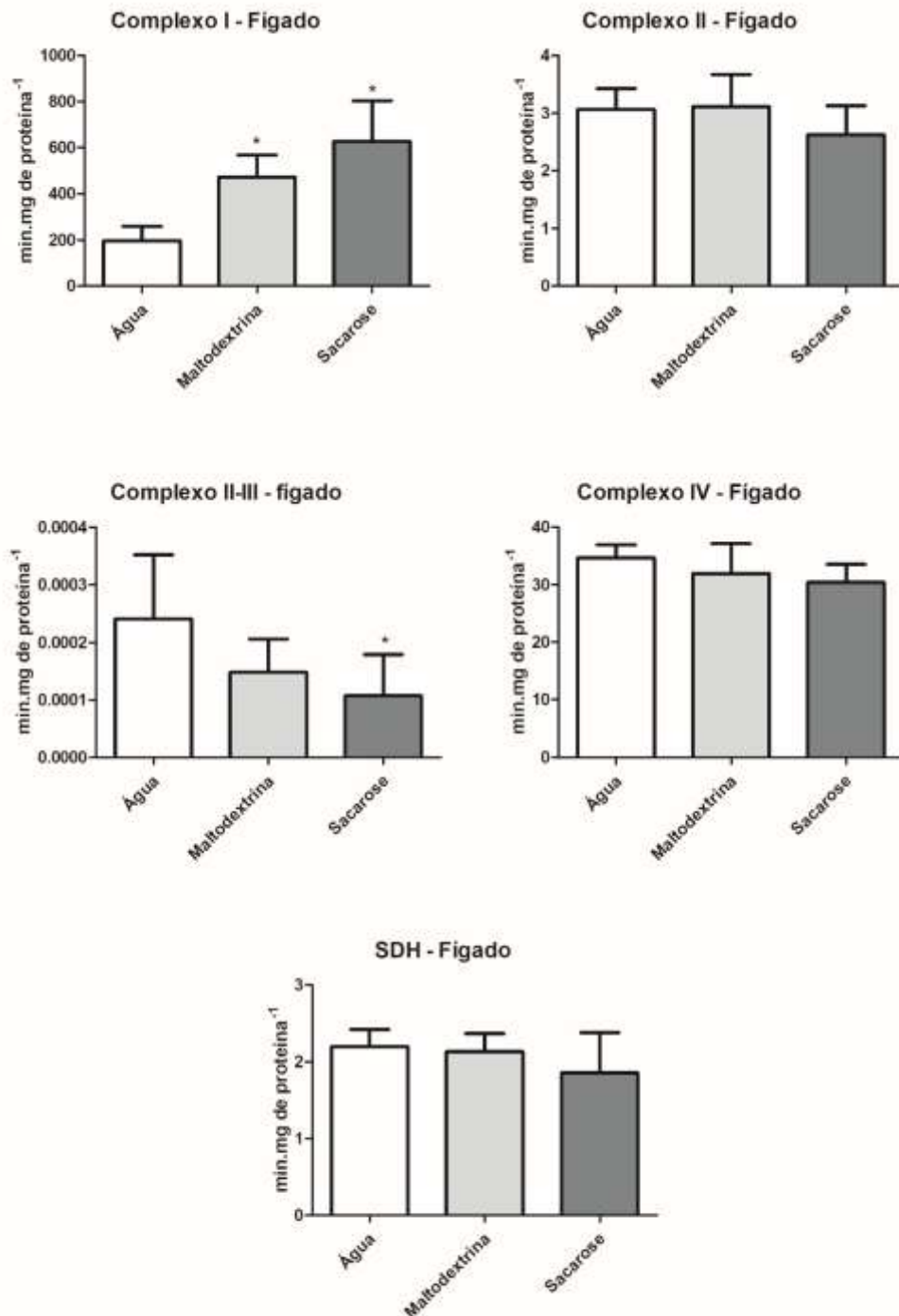


Figura 6. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no fígado de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do Autor, 2025.

No córtex (figura 7), foi observado um aumento da atividade do complexo I no grupo sacarose em relação ao grupo água e maltodextrina ($p < 0,05$). No complexo II, foi observado um aumento da atividade no grupo maltodextrina e sacarose em relação ao grupo água ($p < 0,05$). No entanto, no complexo IV houve uma diminuição da atividade no grupo maltodextrina e sacarose em relação ao grupo água ($p < 0,05$). Não houve diferença estatisticamente significativa da atividade do complexo II-III e da SDH entre os grupos.

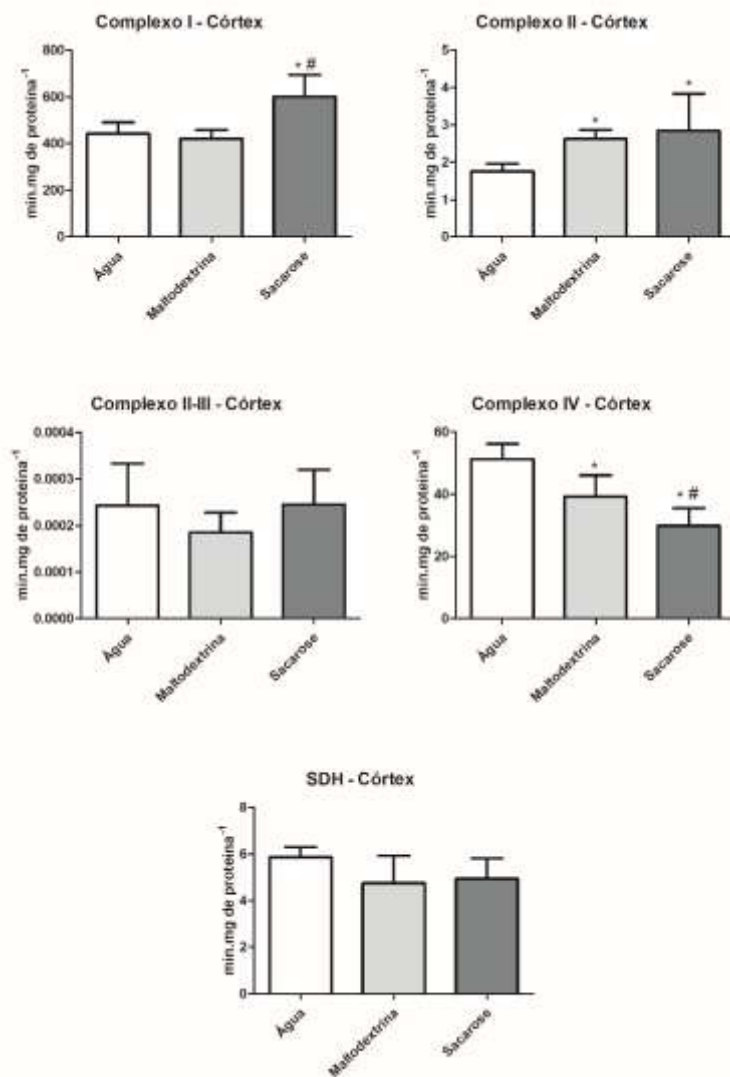


Figura 7. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no córtex de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do Autor, 2025.

No hipocampo (figura 8) foi observado aumento da atividade complexo I no grupo maltodextrina e sacarose em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). No complexo II e II-III não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. No complexo IV, houve aumento da atividade do complexo IV no grupo maltodextrina em relação ao grupo controle e ao grupo sacarose ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa na atividade da SDH.

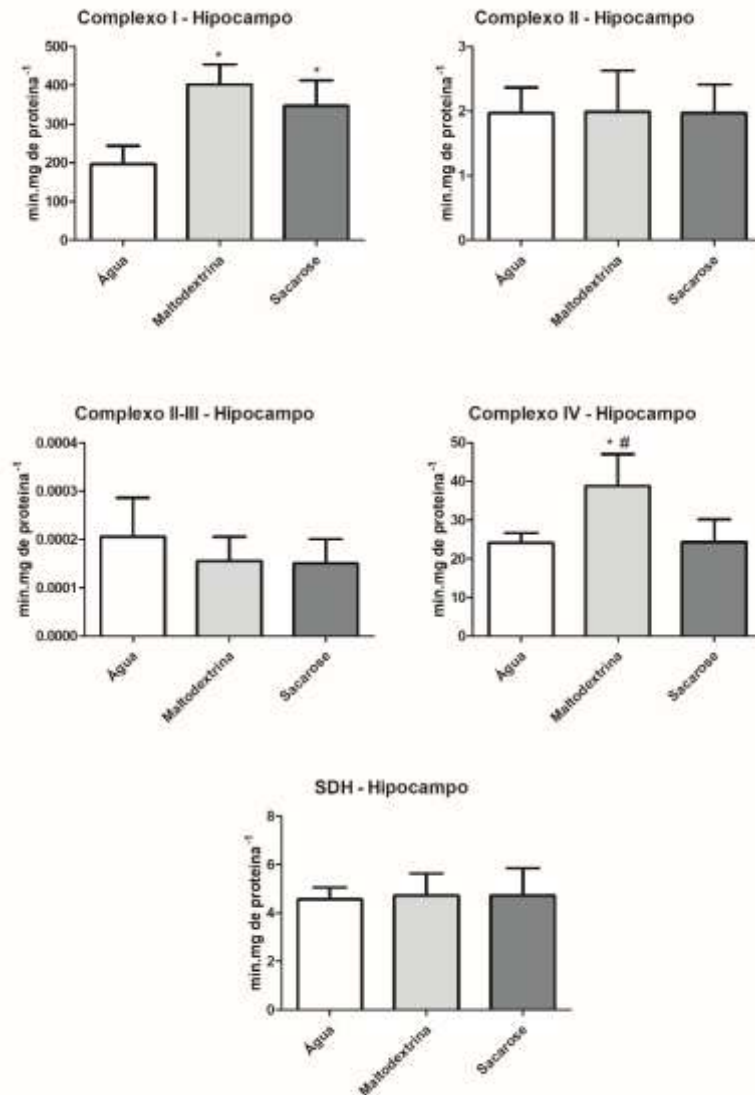


Figura 8. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no hipocampo de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do Autor, 2025.

4.2 RESULTADOS DA PROLE (FÊMEAS E MACHOS)

4.2.1 Peso corporal e glicemia de jejum

Após o nascimento da prole, os machos e fêmeas foram acompanhados durante o período de lactação (21 dias) e após o desmame, até os 30 dias de vida para quantificação do peso corporal (tabela 4) e da glicose (tabela 5).

Em relação ao peso corporal, nas fêmeas da prole não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos e também nas diferentes idades. Nos machos, foi observado aumento do peso corporal no grupo sacarose em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

Tabela 4. Peso corporal da prole (fêmeas e machos) de camundongos Swiss fêmeas que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação

| | Grupos | Peso (g) 21 dias | Peso (g) 30 dias |
|---------------|---------------|---------------------|---------------------|
| Fêmeas | | | |
| | Água | 8,5 ± 1,0 | 16,8 ± 2,6 |
| | Maltodextrina | 7,8 ± 1,0 | 14,4 ± 1,3 |
| | Sacarose | 9,3 ± 1,9 | 15,1 ± 2,2 |
| Machos | | | |
| | Água | 8,8 ± 1,3 | 17,0 ± 0,0 |
| | Maltodextrina | 6,5 ± 1,3 | 15,0 ± 0,7 |
| | Sacarose | 9,3 ± 1,7* | 16,8 ± 2,3 |

Os dados estão expressos como média ± desvio padrão da média do peso corporal nos diferentes sexos e idades (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo *post hoc* de Tukey). Fonte: Do Autor, 2025.

Na avaliação da glicemia, na prole fêmea com 21 dias não houve diferença significativa entre os grupos. No entanto, aos 30 dias de vida foi observado um aumento da glicose em jejum no grupo sacarose em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). Nos machos, não foi observado diferença na glicemia de jejum entre os grupos em nenhuma das idades.

Tabela 5. Glicemia de jejum (mg/dL) da prole (fêmeas e machos) de camundongos Swiss fêmeas que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação

| Grupos | Glicose | Glicose |
|---------------|--------------------|--------------------|
| | (mg/dL) 21 dias | (mg/dL) 30 dias |
| Fêmeas | | |
| Água | 112,0 ± 10,7 | 115,0 ± 9,0 |
| Maltodextrina | 102,0 ± 14,1 | 136,7 ± 17,2 |
| Sacarose | 100,5 ± 21,0 | 143,6 ± 16,4* |
| Machos | | |
| Água | 97,0 ± 23,4 | 131,3 ± 9,0 |
| Maltodextrina | 97,4 ± 13,6 | 138,0 ± 17,8 |
| Sacarose | 94,5 ± 12,8 | 133,5 ± 11,5 |

Os dados estão expressos como média ± desvio padrão da média da glicemia de jejum nos diferentes sexos e idades (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo controle (água) no mesmo período (p<0,05, ANOVA seguido pelo *post hoc* de Tukey). Fonte: Do Autor, 2025.

4.2.2 Genotoxicidade

4.2.2.1 Ensaio Cometa

Foi realizado o ensaio cometa em sangue periférico, fígado, córtex e hipocampo na prole (machos e fêmeas), a fim de avaliar a genotoxicidade relacionada ao consumo de maltodextrina e sacarose durante a gestação e lactação e seu efeito na prole.

Em relação aos resultados da prole fêmea, na figura 9 temos os resultados da genotoxicidade em tecidos periféricos: sangue total com 21 e 30 dias e fígado (após a eutanásia aos 30 dias de vida). No sangue, com 21 e 30 dias, foi observado um aumento de danos ao DNA no grupo sacarose em relação ao grupo água e ao grupo maltodextrina (p<0,05). No fígado não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas.

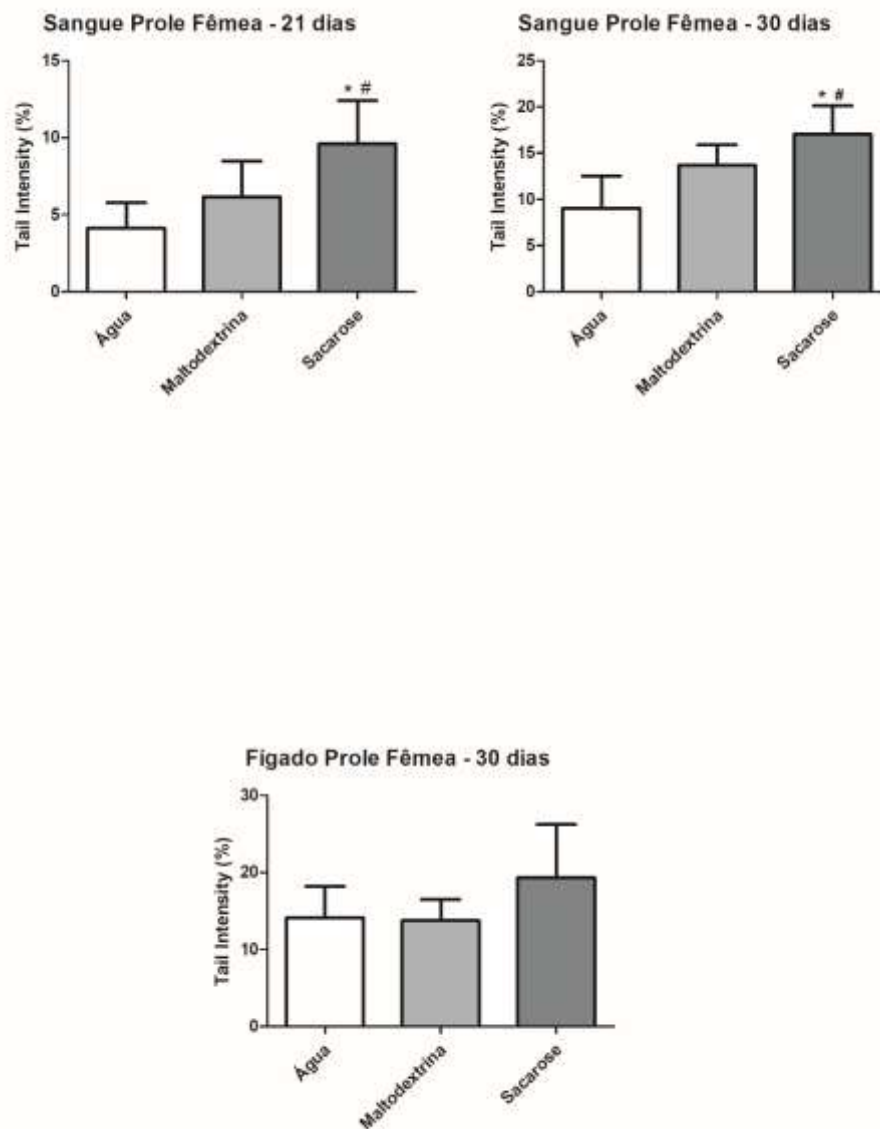


Figura 9. Tail Intensity (%) de tecidos periféricos da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

Além dos tecidos periféricos, avaliamos os tecidos cerebrais, hipocampo e córtex (figura 10), na prole fêmea. No hipocampo não foram encontradas diferenças entre os grupos. Já no córtex, foi observado um aumento do dano ao DNA nos grupos maltodextrina e sacarose em relação ao grupo controle.

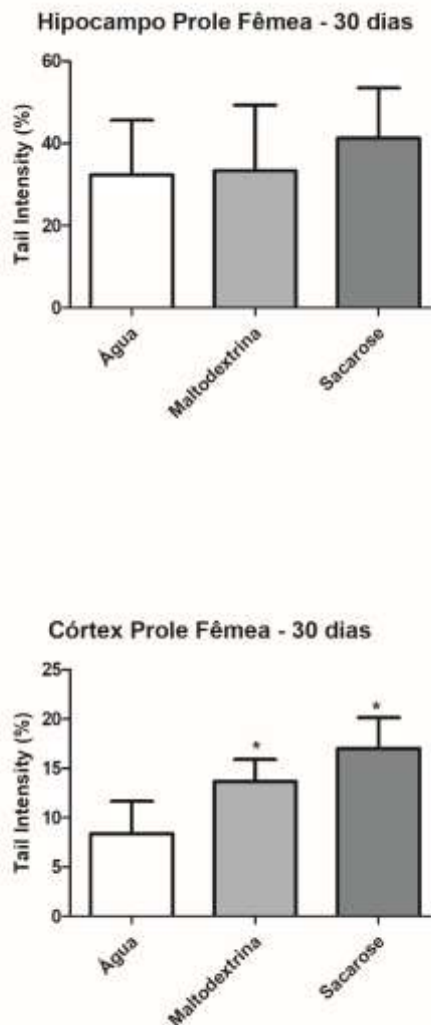


Figura 10. Tail Intensity (%) de tecidos cerebrais da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

Na prole macho, em relação aos resultados de tecidos periféricos (figura 11) foi observado que no sangue, na idade de 21 dias, houve um aumento de danos ao DNA nos grupos maltodextrina e sacarose em relação ao controle ($p < 0,05$). Na idade de 30 dias, foi observada genotoxicidade apenas no grupo sacarose em relação ao grupo controle e ao grupo maltodextrina, pelo aumento do Tail Intensity (%). No fígado, foi observado diferença estatisticamente significativa no grupo sacarose, com aumento de danos ao DNA em relação ao grupo maltodextrina e ao grupo controle ($p < 0,05$).

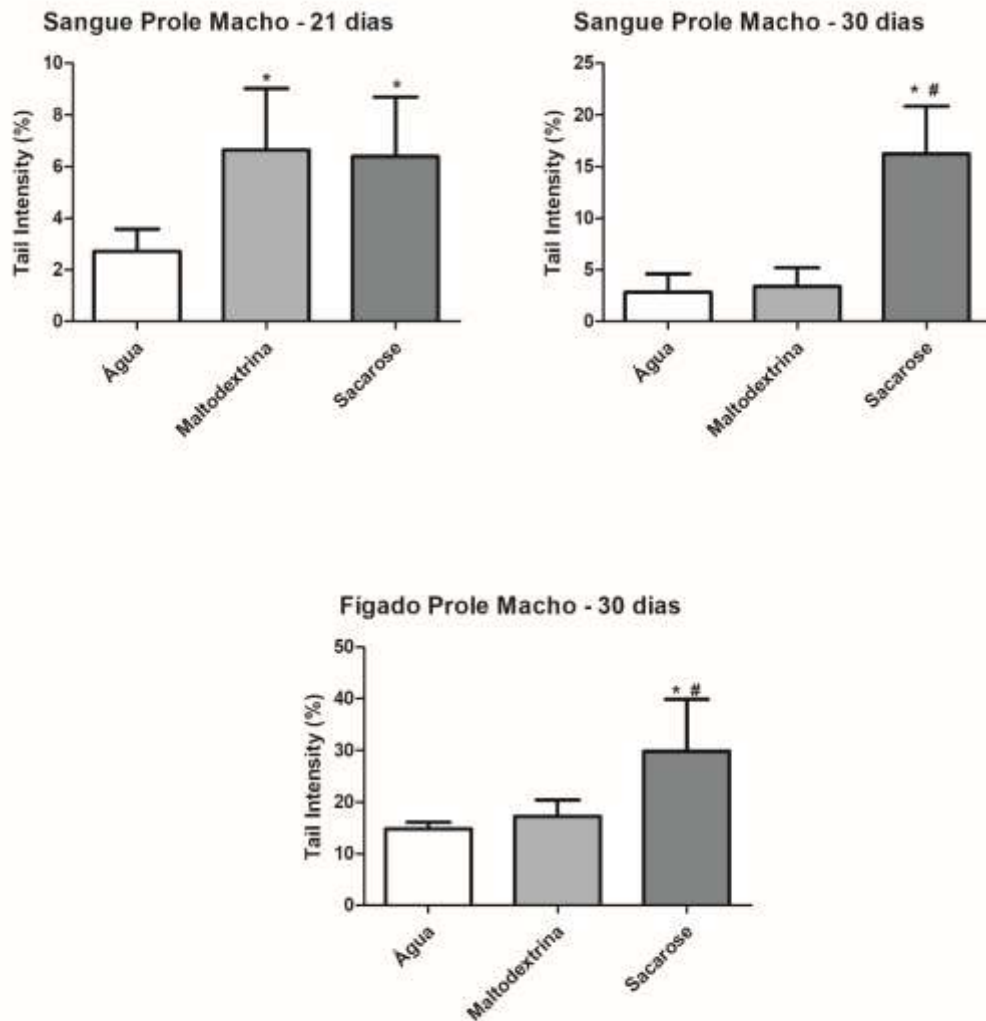


Figura 11. Tail Intensity (%) de tecidos periféricos da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

Na avaliação dos tecidos cerebrais na prole macho (figura 12), no hipocampo foi observado aumento de danos ao DNA no grupo sacarose em relação ao grupo água ($p < 0,05$). No córtex, foi observado um aumento de danos ao DNA no grupo maltodextrina e sacarose em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

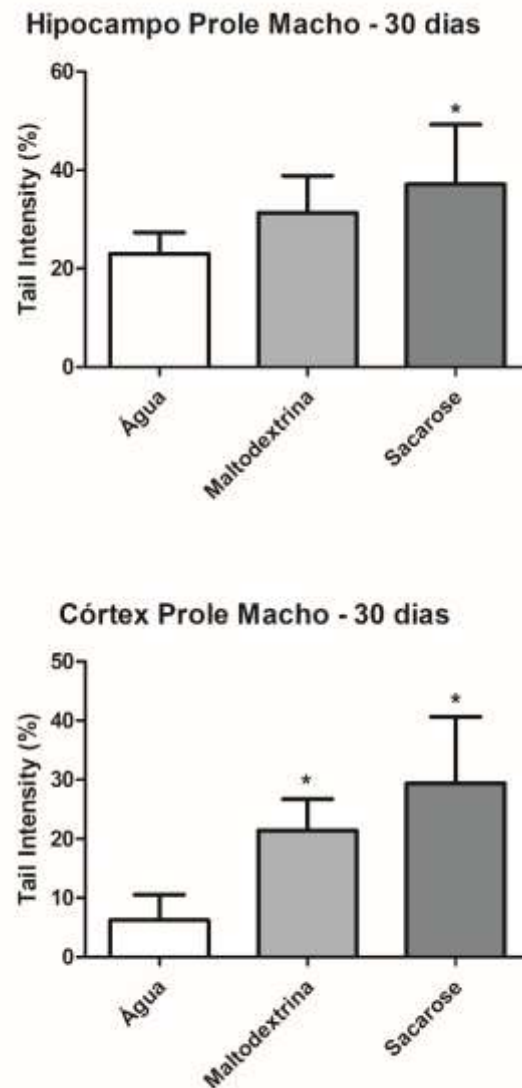


Figura 12. Tail Intensity (%) de tecidos cerebrais da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

4.2.2.2 Teste de Micronúcleos

Para avaliação da mutagenicidade na prole fêmea (tabela 4) e macho (tabela 5) foi realizado o teste de micronúcleos aos 30 dias de vida.

Nas proles fêmeas e machos foram observadas diferenças estatisticamente significativas no número de micronúcleos em EPC no grupo sacarose em relação ao grupo água ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa no grupo maltodextrina. Em relação à proporção

EPC/ENC, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, demonstrando que a produção de eritrócitos está ocorrendo normalmente na medula óssea, sem indícios de citotoxicidade.

Tabela 6. Número de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) observados nas amostras de medula óssea da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação

| Tratamento | EPCMn | EPC/ENC |
|---------------|------------|-------------|
| Água | 0.5 ± 0.8 | 0.54 ± 0.02 |
| Maltodextrina | 1.8 ± 0.4 | 0.54 ± 0.02 |
| Sacarose | 2.8 ± 1.5* | 0.53 ± 0.01 |

Foram analisadas 4000 células por amostra e estão demonstradas na tabela como média ± desvio padrão da média (n= 6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água (p< 0.05, Kruskal-Wallis com *post hoc* Dunn's). Fonte: Do autor, 2025.

Tabela 7. Número de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) observados nas amostras de medula óssea da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação

| Tratamento | EPCMn | EPC/ENC |
|---------------|------------|-------------|
| Água | 1.2 ± 1.1 | 0.53 ± 0.02 |
| Maltodextrina | 1.7 ± 2.0 | 0.52 ± 0.01 |
| Sacarose | 4.2 ± 2.9* | 0.53 ± 0.01 |

Foram analisadas 4000 células por amostra e estão demonstradas na tabela como média ± desvio padrão da média (n= 6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água (p< 0.05, Kruskal-Wallis com *post hoc* Dunn's). Fonte: Do autor, 2025.

4.2.3 Cadeia respiratória mitocondrial na prole

A cadeia transportadora de elétrons é formada por quatro complexos, é na cadeia transportadora de elétrons que a maior quantidade de ATP é produzida, assim foi avaliada análise da atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no fígado, córtex e hipocampo da prole de 30 dias de vida de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação.

4.2.3.1 Prole fêmea

No fígado (figura 13), na avaliação do complexo I foi observado um aumento da atividade no grupo maltodextrina e sacarose em relação ao grupo água (p<0,05). No complexo

II, não houve diferença estatisticamente significativa. A atividade do complexo II-III foi menor no grupo maltodextrina em relação ao grupo água ($p < 0,05$). Em relação a atividade do complexo IV e da SDH, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

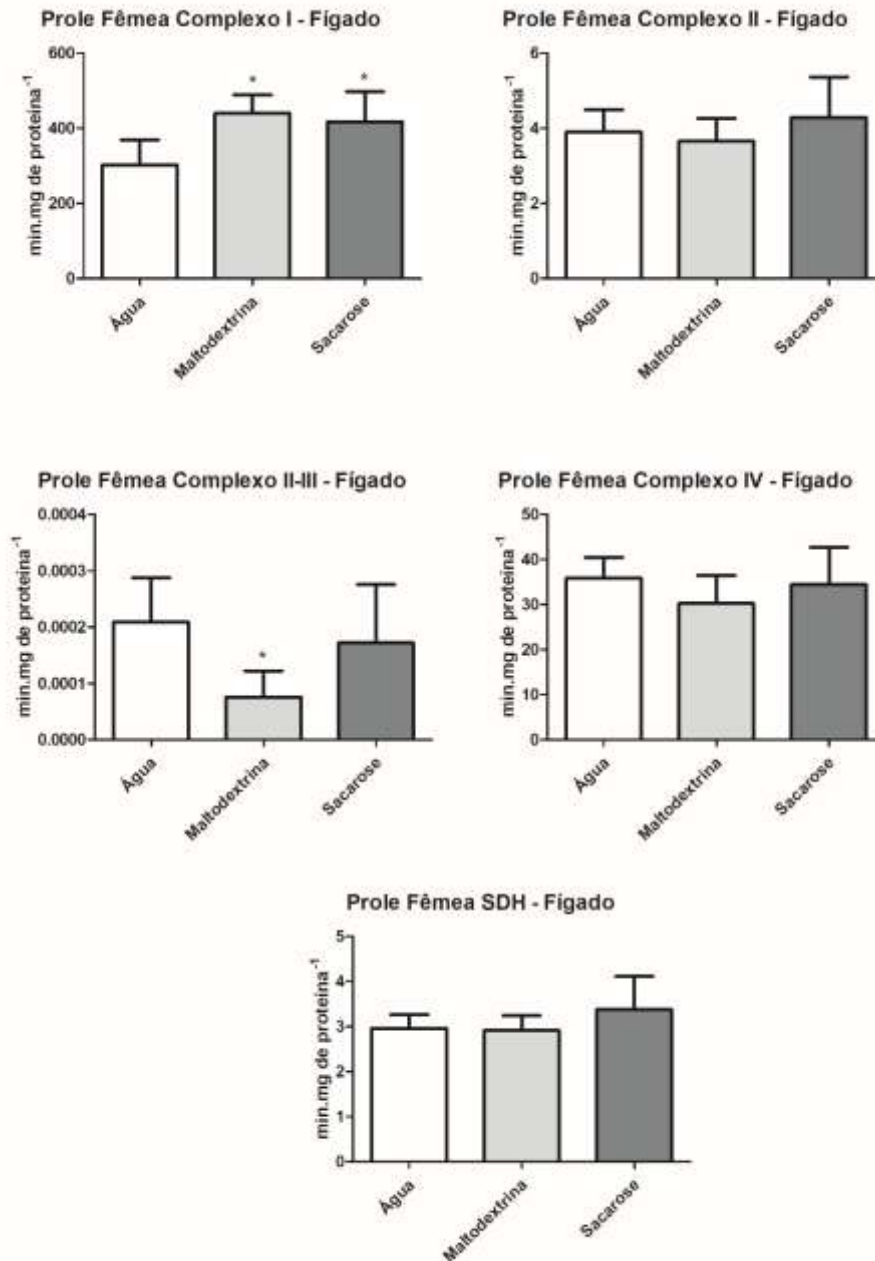


Figura 13. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no fígado da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

No córtex (figura 14), na avaliação do complexo I foi observado um aumento da atividade no grupo sacarose em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$). No complexo II, foi observado que o grupo sacarose apresentou aumento da atividade em relação ao grupo controle e maltodextrina ($p < 0,05$). A atividade do complexo II-III e IV não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Em relação SDH, foi observado um aumento no grupo sacarose em relação ao grupo maltodextrina e controle ($p < 0,05$).

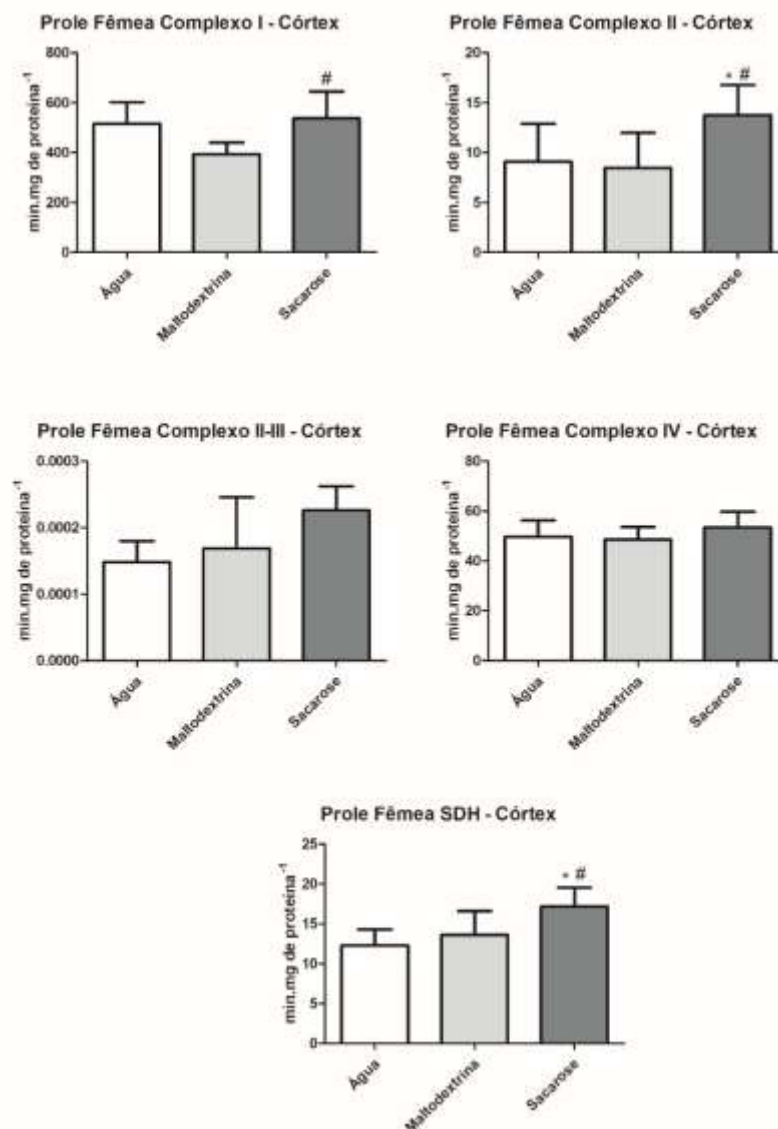


Figura 14. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no córtex da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

No hipocampo (figura 15), não houve diferença significativa na atividade do complexo I entre os grupos. No complexo II foi observado uma diminuição da atividade no grupo maltodextrina em relação ao grupo água ($p < 0,05$). No grupo sacarose, no complexo II, houve um aumento na atividade em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$). No complexo II-III, IV e na SDH não houve diferença estatisticamente significativa.

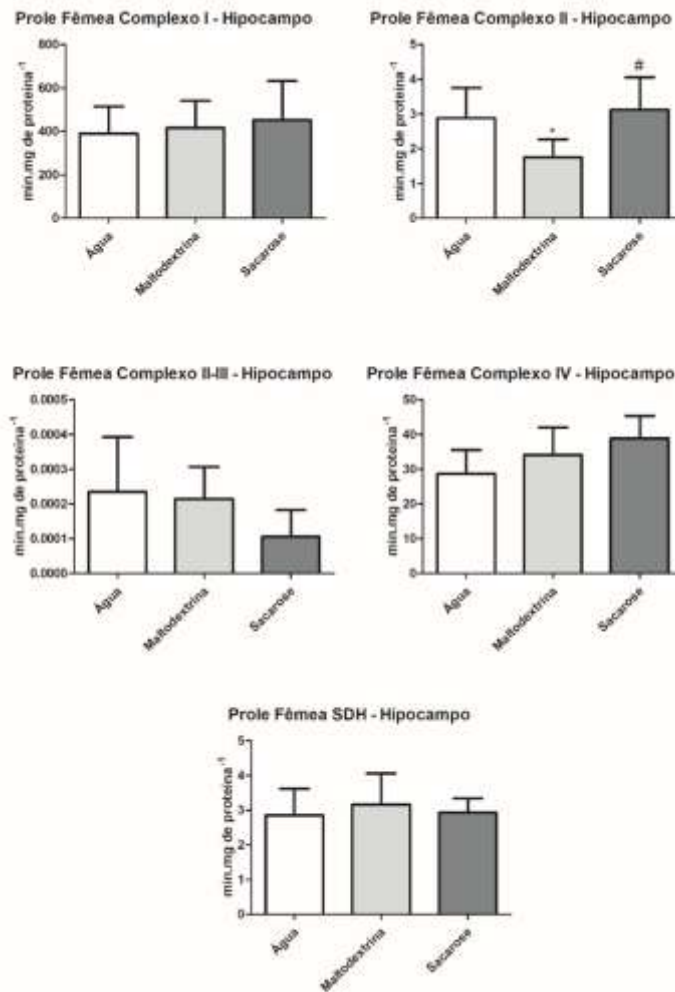


Figura 15. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no hipocampo da prole fêmea de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

4.2.3.2 Prole macho

No fígado (figura 16), na avaliação do complexo I, foi observado um aumento da atividade no grupo maltodextrina e sacarose em relação ao grupo água ($p < 0,05$). No complexo

II, o grupo maltodextrina apresentou uma diminuição da atividade em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). A atividade do complexo II-III, IV e da SDH não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

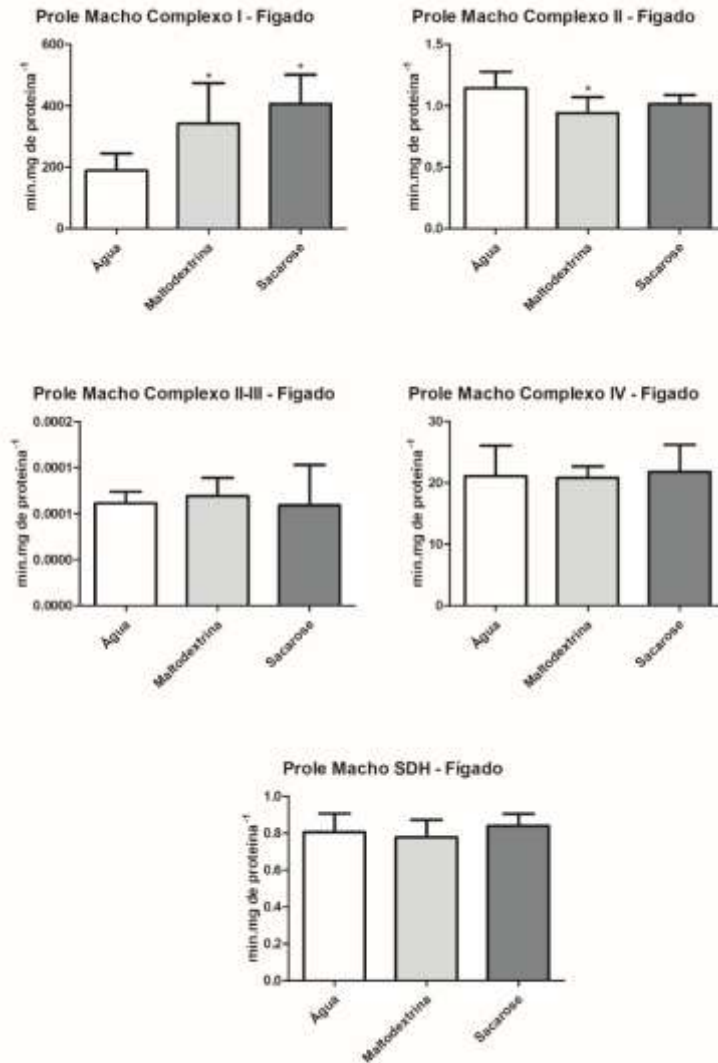


Figura 16. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no fígado da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

No córtex (figura 17) não houve diferença entre os grupos na atividade do complexo I. No complexo II, o grupo sacarose apresentou um aumento em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$). A atividade do complexo II-III, IV e da SDH não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

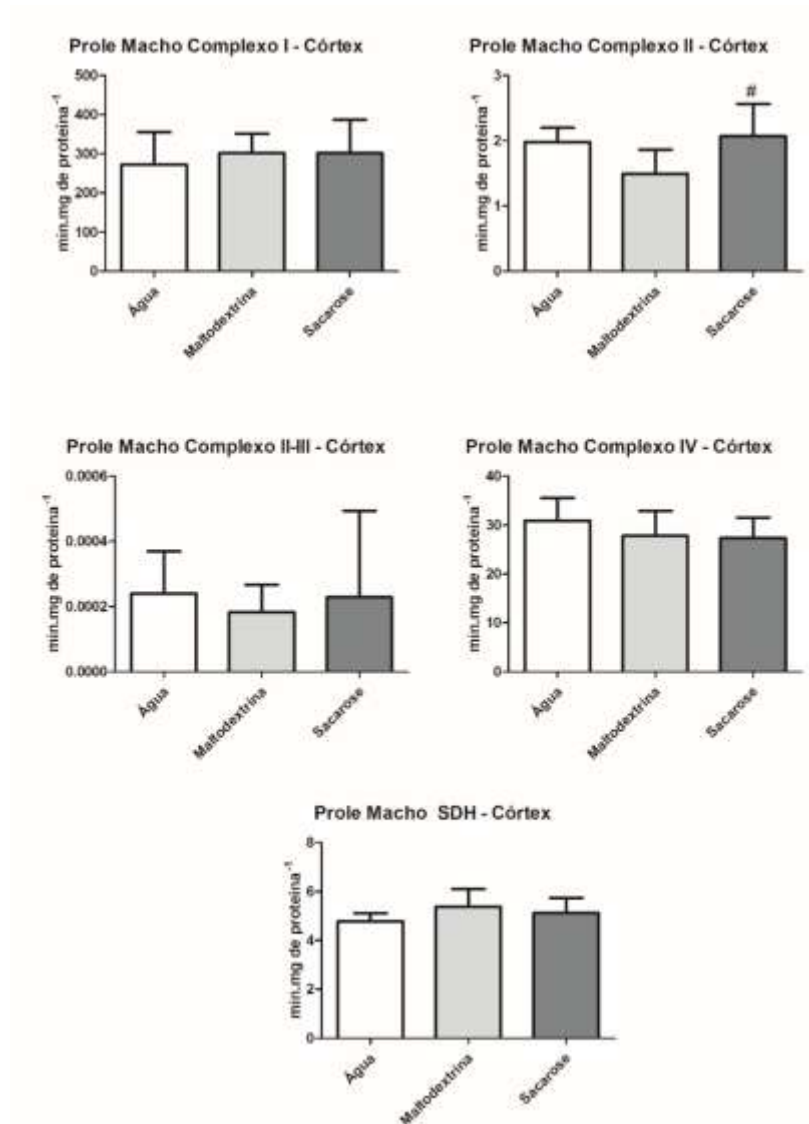


Figura 17. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no córtex da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média (n=6 animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

No hipocampo (figura 18), na avaliação do complexo I foi observado um aumento da atividade no grupo sacarose e maltodextrina em relação ao grupo água ($p < 0,05$). A atividade do complexo II, II-III, IV e da SDH não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

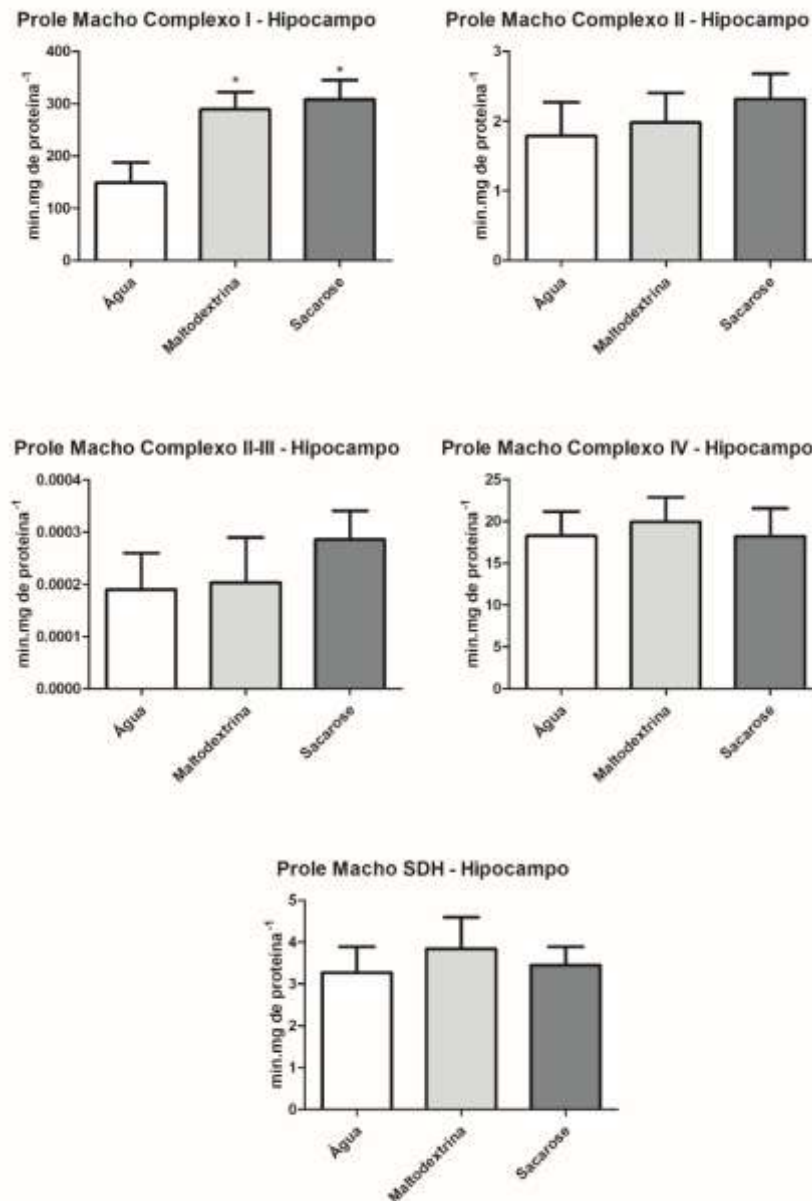


Figura 18. Atividade dos complexos I, complexo II, complexo II-III, complexo IV da cadeia transportadora de elétrons e da succinato desidrogenase (SDH) no hipocampo da prole macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p<0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

4.2.4 Estresse oxidativo na prole em córtex

Para avaliação do estresse oxidativo na prole com 30 dias de vida, foi avaliado a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase (figura 19). Para avaliar o

dano oxidativo, foram avaliados os níveis de TBARS, oxidação do DCFH e conteúdo de sulfidrila na prole fêmea e macho (figura 20).

Na análise da atividade das enzimas antioxidantes, nas proles fêmea e macho, foi observada uma diminuição da atividade da SOD no grupo maltodextrina em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). Já no grupo sacarose, na prole fêmea, houve um aumento da atividade da SOD em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$). Nos machos, o grupo sacarose levou ao aumento da atividade da SOD em relação aos grupos controle e maltodextrina ($p < 0,05$). Em relação a catalase, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas.

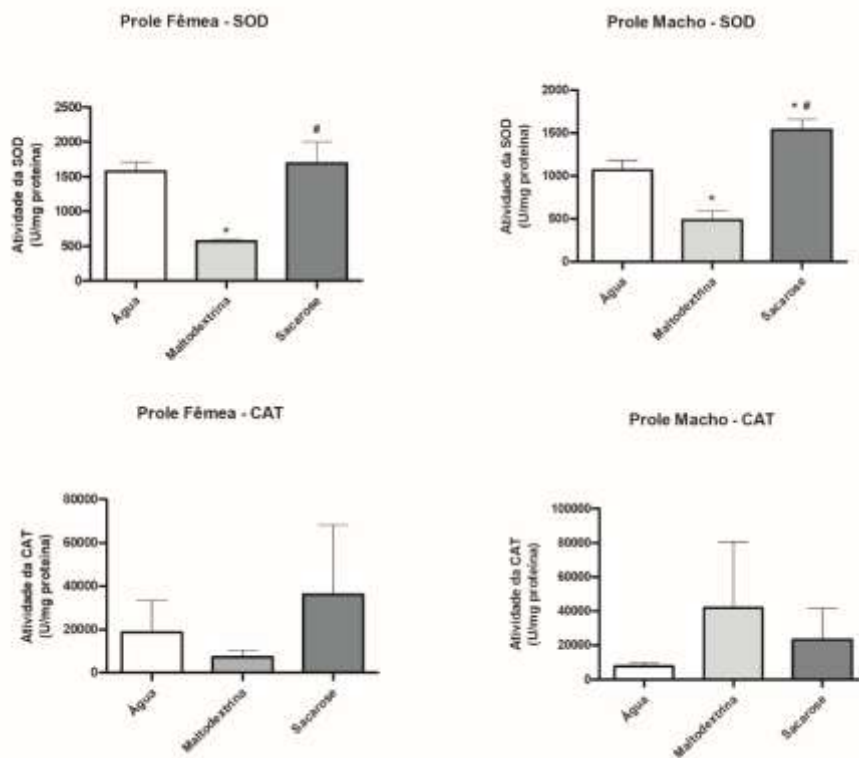


Figura 19. Atividade da superóxido dismutase (SOD) e da catalase (CAT) no córtex da prole fêmea e macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

Na avaliação do dano oxidativo na prole (figura 20), não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nos níveis de TBARS na prole fêmea entre os grupos. Já, na prole macho, foi observado um aumento no grupo sacarose em relação ao grupo controle e ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$). Em relação a oxidação do DCFH na prole fêmea, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Mas novamente, na prole macho, foi observado um aumento da oxidação do DCFH no grupo sacarose em relação ao grupo controle

($p < 0,05$). Em relação ao conteúdo de sulfidrila, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, em ambos os sexos.

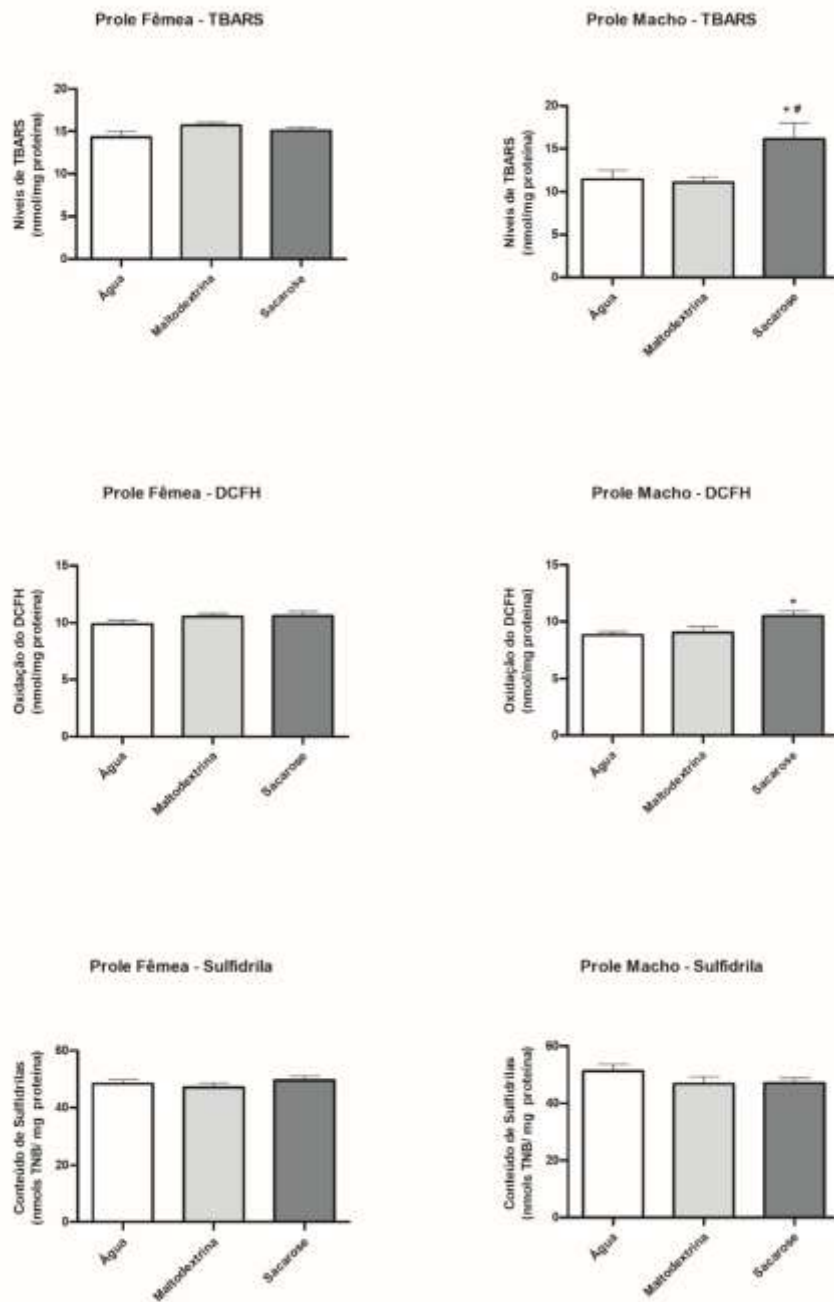


Figura 20. Dano oxidativo do córtex da prole fêmea e macho de camundongos Swiss fêmeas matrizes que receberam água, maltodextrina (10%/L) ou sacarose (10%/L) durante a cópula, gestação e lactação. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($n=6$ animais por grupo). *Diferença significativa em relação ao grupo água ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). #Diferença significativa em relação ao grupo maltodextrina ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo post hoc de Tukey). Fonte: Do autor, 2025.

5. DISCUSSÃO

A hipótese das DOHaD sugere que exposições ambientais durante janelas críticas do desenvolvimento, como a gestação e a lactação, podem modular permanentemente a programação metabólica e fisiológica, aumentando a predisposição a doenças crônicas ao longo da vida (CHEN; GUR, 2019). Dentre os fatores determinantes desse processo, a nutrição materna exerce um papel central, sendo o consumo excessivo de carboidratos um elemento de particular relevância. Evidências indicam que a ingestão elevada de açúcares no período gestacional pode comprometer a homeostase glicêmica fetal, induzir disfunções mitocondriais e o estresse oxidativo, mecanismos que estão implicados no desenvolvimento de obesidade e resistência insulínica na prole (GODFREY *et al.*, 2017). Nesse contexto, o presente estudo investigou os efeitos da exposição materna à maltodextrina e à sacarose durante a gestação e lactação sobre parâmetros bioquímicos e genotóxicos em camundongos Swiss fêmeas e em sua prole, visando elucidar os mecanismos relacionados a programação metabólica.

A nutrição materna desempenha um papel crucial na programação metabólica, sendo o consumo de carboidratos, como maltodextrina e sacarose, um fator determinante na modulação da homeostase glicêmica e da bioenergética mitocondrial da prole (HEERWAGEN *et al.*, 2010). Alterações na ingestão materna desses macronutrientes durante a gestação e lactação podem impactar tanto o metabolismo materno quanto a disponibilidade de substratos energéticos para o feto e o recém-nascido, influenciando desfechos metabólicos a longo prazo (BROUSSARD; DEVKOTA, 2016). Dessa forma, nossos resultados mostraram que, em relação ao consumo alimentar e peso corporal das fêmeas matrizes, foi observado que as fêmeas dos grupos maltodextrina e sacarose consumiram mais líquidos em comparação ao grupo controle e com isso houve maior aporte calórico. No entanto, o peso corporal não apresentou variações significativas entre os grupos, indicando que o aumento do consumo calórico não resultou necessariamente em ganho de peso nas mães.

O estudo de Kendig *et al.* (2014) demonstrou que o consumo de maltodextrina pode induzir efeitos metabólicos semelhantes aos causados pela ingestão de sacarose. Ambos os carboidratos, apesar de apresentarem diferenças em suas estruturas e mecanismos de absorção, têm o potencial de afetar significativamente a homeostase glicêmica e os processos metabólicos. Nesse experimento, os camundongos alimentados com soluções de maltodextrina (10%) ou sacarose (10%) exibiram alterações significativas na ingestão de alimentos e líquidos, semelhantes aos achados no presente estudo, onde as fêmeas nos grupos de maltodextrina e sacarose consumiram mais líquidos, resultando em um aumento do consumo calórico. Esses

efeitos podem ser atribuídos à alta capacidade glicêmica e calórica desses carboidratos, que levam a picos de glicose sanguínea e subsequente estímulo ao apetite, promovendo o aumento da ingestão alimentar. A evidência de que tanto a maltodextrina, quanto a sacarose, alteram a ingestão alimentar e o metabolismo energético de maneira semelhante, sugere que a exposição materna a esses carboidratos pode influenciar adversamente os processos metabólicos da prole, reforçando a importância de limitar o consumo de carboidratos refinados durante períodos críticos do desenvolvimento.

Na prole das nossas fêmeas, os efeitos desse consumo materno foram evidenciados, sobretudo, nos machos do grupo sacarose com 21 dias de vida, que apresentaram maior peso corporal em comparação ao grupo controle. O aumento de peso observado na prole masculina aos 21 dias de vida, no grupo exposto à sacarose, seguido pela regularização aos 30 dias, pode ser explicado por vários fatores relacionados ao desenvolvimento metabólico e fisiológico durante o período de transição entre a lactação e a alimentação complementar. Durante a lactação, a prole é fortemente influenciada pela nutrição materna, que é a principal fonte de nutrientes. A exposição à sacarose durante esse período pode ter induzido um aumento temporário no peso corporal devido à maior ingestão calórica ou ao impacto da hiperglicemia materna na homeostase glicêmica da prole. A sacarose pode afetar a sinalização da insulina e aumentar a deposição de gordura, promovendo ganho de peso no início da vida, quando a regulação do metabolismo ainda está em fase de adaptação (KISIOGLU; NERGIZ-UNAL, 2020).

Esse efeito entre as idades no ganho de peso pode refletir uma adaptação metabólica natural, onde o aumento do peso corporal observado durante a lactação foi temporário e, à medida que a prole se adapta à sua alimentação pós-lactação, o peso se estabiliza. Isso também sugere que a programação metabólica induzida pela exposição a dietas hiperglicêmicas, como a da sacarose, pode ter um efeito temporário na fase de lactação, mas o impacto a longo prazo (como no caso de obesidade ou resistência insulínica) pode se tornar mais evidente em fases posteriores do desenvolvimento, à medida que outros fatores, como dieta e estilo de vida, começam a desempenhar um papel maior (LANGLEY-EVANS, 2022). No caso dos animais, a ração segue a padrão e talvez, por isso, não tenha sido encontrado diferença significativa. Durante a gestação, as fêmeas do grupo sacarose apresentaram níveis significativamente mais elevados de glicose em jejum. No entanto, durante a lactação, os níveis de glicose não diferiram significativamente entre os grupos. D'alessandro *et al.* (2014) investigaram os efeitos de uma dieta materna rica em sacarose durante a gestação e lactação no metabolismo de glicose e lipídios da prole em idade adulta. Eles observaram que a exposição materna à sacarose durante

a gestação pode induzir alterações no metabolismo glicídico da prole, aumentando o risco de hiperglicemia, resistência insulínica e obesidade, corroborando com os nossos resultados encontrados na prole com 30 dias de vida.

O consumo alimentar materno, especialmente de dietas ricas em carboidratos refinados e açúcares simples, pode estar diretamente associado a danos ao DNA e instabilidade genômica tanto na mãe quanto na prole (MAGENIS *et al.*, 2024). O ensaio cometa indicou aumento do dano ao DNA nas fêmeas matrizes em sangue periférico após o tratamento, porém sem diferenças entre os grupos. Já no córtex, o grupo maltodextrina apresentou aumento significativo do dano ao DNA em comparação ao grupo controle. No entanto, no fígado e hipocampo, não houve diferença entre os grupos. Existem poucos estudos que investigam os mecanismos da maltodextrina na gestação e, principalmente, no cérebro. Stamataki *et al.* (2022) investigaram as respostas cerebrais a bebidas contendo diferentes tipos de adoçantes e calorias, incluindo maltodextrina, e observaram uma diminuição temporária da atividade cerebral em regiões como o tálamo, córtex visual, cerebelo, hipocampo e ínsula nos primeiros 10 a 20 minutos após o consumo. Essas alterações podem estar relacionadas a efeitos metabólicos decorrentes do rápido aumento da glicose sanguínea, o que, por sua vez, pode desencadear estresse oxidativo e contribuir para danos ao DNA neuronal. No entanto, ainda são necessários mais estudos para compreender os impactos da exposição à maltodextrina durante a gestação, especialmente em relação aos mecanismos moleculares envolvidos no cérebro da prole.

Na prole, o ensaio cometa revelou um aumento de dano ao DNA no sangue periférico dos animais expostos à sacarose e maltodextrina, comparado ao grupo controle, aos 21 dias de vida. Esse achado sugere que a exposição intrauterina, e também durante a lactação, pode levar à instabilidade genômica. Aos 30 dias de vida, o dano ao DNA no sangue aumentou significativamente, indicando que o efeito genotóxico não apenas persistiu, mas se intensificou com a idade na prole fêmea e macho. A literatura mostra que dietas maternas ricas em açúcares podem reduzir a expressão de genes envolvidos no reparo do DNA, tornando as células mais suscetíveis a mutações e quebras na fita do DNA (GLASTRAS *et al.*, 2018).

No fígado da prole observamos um aumento significativo do dano ao DNA nos grupos expostos à sacarose e maltodextrina, reforçando a hipótese de que a bioenergética mitocondrial hepática pode estar comprometida nesses animais. Estudos indicam que dietas maternas ricas em carboidratos refinados podem reduzir a expressão de proteínas da cadeia transportadora de elétrons, como SIRT3, PGC-1 α e fatores de fusão mitocondrial (BORENGASSER *et al.*, 2014). Essa disfunção pode aumentar o acúmulo de EROs, favorecendo danos ao DNA no fígado. O fígado é um órgão central no metabolismo glicídico

e lipídico. Dietas ricas em sacarose estão associadas ao aumento da lipogênese hepática, o que pode levar a um estado inflamatório crônico e maior instabilidade genômica (SHANKAR *et al.*, 2010a).

O córtex e o hipocampo da prole exposta à sacarose e maltodextrina apresentaram um aumento significativo do dano ao DNA, reforçando a hipótese de que a programação metabólica pode impactar a estabilidade genômica do sistema nervoso central. O cérebro tem alta demanda energética e é particularmente vulnerável ao estresse oxidativo. Dietas ricas em açúcares podem induzir disfunção mitocondrial e aumento da peroxidação lipídica, o que pode explicar o aumento do dano ao DNA observado (NERI; EDLOW, 2016).

A hiperativação de vias inflamatórias em resposta a uma dieta materna hiperglicêmica pode promover a ativação de microglia e astrócitos, contribuindo para danos neuronais e disfunções cognitivas na prole. Citocinas, como fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina IL-1 β e IL-6 são produzidas pela glia no sistema nervoso central (SNC) e estão implicadas na formação e dimensionamento sináptico, potencialização de longo prazo e neurogênese. A presença de dano ao DNA no córtex e hipocampo pode estar associada a déficits cognitivos, menor plasticidade neuronal e aumento do risco de doenças neurodegenerativas ao longo da vida (BILBO, 2009).

O estudo de Mizera *et al.* (2021) demonstrou que a exposição pré-natal e durante a lactação a uma dieta materna rica em açúcares (sacarose, glicose e frutose) resultou em déficits de memória espacial e de reconhecimento na prole de ratos, além de alterações moleculares significativas nos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA). Essas alterações incluíram redução da expressão de subunidades GluN1, GluN2A e GluN2B e proteínas de ancoragem sináptica, especialmente no córtex pré-frontal medial e hipocampo, regiões cerebrais fundamentais para os processos de aprendizado e memória. Os achados reforçam a hipótese de que uma alimentação materna desbalanceada pode comprometer a plasticidade sináptica e a função cognitiva da prole.

O teste de micronúcleos revelou um aumento significativo de células micronucleadas no grupo maltodextrina, indicando um maior potencial mutagênico nas fêmeas matrizes. Entretanto, na prole, observou-se um aumento na frequência de MN no grupo sacarose, em ambos os sexos. A rápida metabolização da maltodextrina pode ter levado a um desbalanço na homeostase energética mitocondrial, resultando em dano oxidativo ao DNA nuclear e mitocondrial nas células maternas (HASTIE; LAPPAS, 2014). O consumo de carboidratos, como a frutose, por exemplo, pode prejudicar vias de reparo do DNA, incluindo

a via de reparo por excisão de bases (BER) e a via de recombinação homóloga, tornando as células mais propensas a mutações estruturais (MAGENIS *et al.*, 2024).

O dano ao DNA pode resultar do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio durante o funcionamento da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, comprometendo a produção de ATP e contribuindo para a disfunção metabólica (MUÑOZ; COSTA, 2013). Para avaliar essa atividade, foi realizada avaliações do complexo I, II, II-III, IV e SDH nas fêmeas matrizes e na prole. Os resultados indicam que o consumo materno de sacarose e maltodextrina durante a gestação e lactação afetou a bioenergética mitocondrial da prole, levando a alterações na atividade dos complexos da cadeia transportadora de elétrons em diferentes tecidos. Essas mudanças sugerem desregulação da função mitocondrial e possível impacto no metabolismo energético da descendência, o que pode estar associado à programação metabólica adversa e ao aumento da susceptibilidade a doenças crônicas ao longo da vida (TAYLOR *et al.*, 2005).

O consumo de sacarose e maltodextrina alterou a atividade dos complexos da cadeia transportadora de elétrons nos tecidos avaliados (córtex, fígado e hipocampo) nas fêmeas matrizes e na prole (machos e fêmeas). A disfunção mitocondrial, especialmente alterações na capacidade dos complexos mitocondriais, leva a um déficit energético e estresse oxidativo, uma vez que a mitocôndria é uma das principais fontes endógenas de ERRO (HALLIWELL, 2001; STEFANATOS; SANZ, 2018).

Acredita-se que as mitocôndrias desempenham um papel biológico crucial na maioria dos distúrbios neurodegenerativos. Os neurônios, sendo células de alta demanda energética, estão intimamente relacionados à manutenção, dinâmica e funções das mitocôndrias. Assim, o comprometimento das atividades mitocondriais está associado a doenças neurodegenerativas, apontando para a importância das funções mitocondriais na fisiologia celular normal (KAUSAR; WANG; CUI, 2018)

Nossos dados indicam que os diferentes carboidratos influenciaram a bioenergética mitocondrial da prole de forma distinta, com impacto variável na atividade dos complexos I, II-III e IV. O Complexo I, foi o que apresentou maior alteração dentre as intervenções. Ele é a principal entrada de elétrons na cadeia de transporte, desempenhando um papel essencial na produção de ATP. Esse aumento do complexo I no fígado (maltodextrina e sacarose), córtex (sacarose) e hipocampo (maltodextrina e sacarose) nas mães, pode indicar hiperatividade da via oxidativa, o que pode estar relacionado a um estado de estresse oxidativo, uma vez que o Complexo I é uma das principais fontes de geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) na mitocôndria (EMMERZAAL *et al.*, 2020).

Esse achado na cadeia transportadora de elétrons sugere que ambos os carboidratos podem estar influenciando o metabolismo energético nessa região cerebral. O aumento da atividade do Complexo I pode indicar maior consumo de NADH e, conseqüentemente, maior fluxo de elétrons na cadeia respiratória. Isso pode ser um reflexo do metabolismo alterado pela dieta materna. Esse aumento pode levar a uma maior produção de radicais livres, especialmente superóxido, contribuindo para o estresse oxidativo observado em alguns tecidos, como no córtex. A literatura mostra que hiperatividade do Complexo I pode estar associada a processos patológicos, incluindo neuroinflamação e doenças metabólicas (OKOYE; KOREN; WOJTOVICH, 2023).

Estudos anteriores demonstram que dietas maternas ricas em açúcares podem aumentar a atividade do Complexo I no SNC da prole, levando a maior produção de EROs e possível neuroinflamação (BORENGASSER *et al.*, 2014). O aumento da atividade do Complexo I no córtex da prole pode estar relacionado à tentativa do organismo de compensar alterações no metabolismo energético induzidas pelo ambiente hiperglicêmico intrauterino, o que, a longo prazo, pode levar a dano neuronal e déficits cognitivos. O Complexo II-III conecta o ciclo do ácido cítrico à cadeia transportadora de elétrons e é essencial para a eficiência do metabolismo energético mitocondrial (Hastie e Lappas, 2014). No presente estudo, a atividade do Complexo II-III no fígado foi reduzida no grupo sacarose das mães, sugerindo que a exposição materna à sacarose pode ter comprometido a capacidade oxidativa do fígado da prole (MELE *et al.*, 2014).

A redução na atividade do Complexo II-III no fígado da prole do grupo sacarose pode indicar um metabolismo energético ineficiente, levando a acúmulo de metabólitos no fígado e predisposição a distúrbios metabólicos. Esse achado é consistente com estudos que demonstram que dietas ricas em açúcares reduzem a eficiência da fosforilação oxidativa hepática, favorecendo um estado metabólico que predispõe à esteatose hepática e resistência insulínica (SHANKAR *et al.*, 2010b).

O Complexo IV é a última etapa da cadeia transportadora de elétrons desempenha um papel fundamental na geração de ATP. No presente estudo, o grupo maltodextrina apresentou aumento na atividade do Complexo IV no hipocampo, enquanto o grupo sacarose não apresentou alterações significativas nesse complexo. O aumento da atividade do Complexo IV pode indicar um processo adaptativo, onde o metabolismo mitocondrial tenta compensar um desequilíbrio energético induzido pela dieta materna (ALFARADHI *et al.*, 2014).

Como já vimos, a função mitocondrial é essencial para as funções do tecido, incluindo produção de energia, metabolismo e regulação de várias respostas celulares, incluindo

resposta ao estresse oxidativo. Dessa forma, nesse trabalho, avaliamos também alguns parâmetros de estresse oxidativo na prole fêmea e macho, mais especificamente no córtex. Foi observado, na prole de ambos os sexos, um aumento da SOD no grupo sacarose e uma diminuição da SOD no grupo maltodextrina. O estresse oxidativo mediado por espécies reativas de oxigênio é uma característica comum de vários distúrbios gestacionais.

Numa gestação normal os tecidos e órgãos em desenvolvimento do feto requerem nutrição e oxigênio suficientes. Esses processos geram EROs nos tecidos maternos e fetais que influenciam o desenvolvimento do crescimento fetal. Para fornecer um ambiente adequado para o feto e o corpo materno, o equilíbrio entre EROs e antioxidantes precisa ser mantido (BAK; ROSZKOWSK, 2013). Durante o terceiro trimestre da gravidez, aumenta a resistência à insulina, o catabolismo da gordura e a liberação de ácidos graxos livres, resultando em maior produção de peróxido de hidrogênio (DUHIG; CHAPPELL; SHENNAN, 2016). As células placentárias têm muitas mitocôndrias, que são a principal fonte de pró-oxigenados. O radical ânion superóxido, por exemplo, produz espécies mais radicais e sua geração aumenta à medida que a gravidez continua (SULTANA *et al.*, 2017).

No nosso trabalho foi observado dano oxidativo no córtex da prole macho, devido ao aumento de TBA-RS e DCFH no grupo sacarose. Lahouel (2024), observou que a exposição à dieta açucarada alterou a homeostase redox no córtex cerebral, conforme revelado por um aumento na peroxidação lipídica e na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), corroborando com os nossos resultados.

A geração de espécies reativas de oxigênio resulta da transferência de um único elétron de um doador redox para o oxigênio molecular, produzindo superóxido que pode ser convertido em peróxido de hidrogênio pela superóxido dismutase. Isso geralmente ocorre quando o oxigênio reage com elétrons gerados pelos complexos I e III, mas também pode ocorrer no complexo II da cadeia de transporte de elétrons (QUINLAN *et al.* 2013).

Esses achados sustentam a hipótese de que o consumo alimentar materno, especialmente em dietas ricas em sacarose e maltodextrina, pode impactar negativamente a integridade genômica da mãe e da prole, em diferentes tecidos, promovendo maior instabilidade genética e alterações metabólicas ao longo da vida. No entanto, a sacarose se mostrou mais prejudicial pensando em todos os desfechos encontrados na prole (dano ao DNA, disfunção mitocondrial e estresse oxidativo). Dessa forma, estratégias nutricionais para reduzir o consumo de açúcares durante a gestação podem ser fundamentais para minimizar o estresse oxidativo e os danos ao DNA na descendência.

6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que o consumo de maltodextrina e sacarose durante a gestação e lactação impacta tanto a saúde das fêmeas matrizes quanto a de sua prole, confirmando programação metabólica. Este estudo mostra, mais especificamente, que o consumo materno de carboidratos refinados, como maltodextrina e sacarose, pode induzir alterações metabólicas, genotóxicas e mitocondriais tanto nas fêmeas matrizes quanto em sua prole, sendo os efeitos mais pronunciados no grupo exposto à sacarose. Esses achados reforçam a relevância da nutrição materna como um fator crítico na programação da saúde da prole, destacando a importância de uma alimentação equilibrada durante períodos críticos do desenvolvimento para prevenir potenciais efeitos adversos ao longo da vida.

REFERÊNCIAS

- ABESO. **Diretrizes brasileiras de obesidade**. 2016. Disponível em: <<https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2019/12/Diretrizes-Download-Diretrizes-Brasileiras-de-Obesidade-2016.pdf>>
- AEBI, H. [13] Catalase in vitro. Em: **Methods in Enzymology**. Elsevier, 1984. v. 105p. 121–126.
- AJIBOYE, T. O. et al. *Hibiscus sabdariffa* calyx palliates insulin resistance, hyperglycemia, dyslipidemia and oxidative rout in fructose-induced metabolic syndrome rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1522–1531, mar. 2016.
- AKSENOV, M. Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer’s disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, n. 2–3, p. 141–145, abr. 2001.
- ALFARADHI, M. 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, 1 jul. 2014.
- ANAD. **Nota de esclarecimento sobre a maltodextrina**. , 2019. Disponível em: <<https://www.anad.org.br/nota-de-esclarecimento/#:~:text=SOBRE%20A%20MALTODEXTRINA&text=Ele%20tem%204%20calorias%20por,e%20tem%20um%20sabor%20neutro.>>
- AYALA, J. E. et al. Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. **Disease Models & Mechanisms**, v. 3, n. 9–10, p. 525–534, 1 set. 2010.
- BÄCKHED, F. et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. **Cell Host & Microbe**, v. 17, n. 5, p. 690–703, maio 2015.
- BAK, A.; ROSZKOWSK, K. Oxidative stress in pregnant women. **Archives of Perinatal Medicine**, v. 19, 2013.
- BANNISTER, J. V.; CALABRESE, L. Assays for Superoxide Dismutase. Em: GLICK, D. (Ed.). **Methods of Biochemical Analysis**. 1. ed. Wiley, 1987. v. 32p. 279–312.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010.
- BEILHARZ, J. E.; MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Diet-Induced Cognitive Deficits: The Role of Fat and Sugar, Potential Mechanisms and Nutritional Interventions. **Nutrients**, v. 7, n. 8, p. 6719–6738, 12 ago. 2015.
- BILBO, S. D. Early-life programming of later-life brain and behavior: a critical role for the immune system. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 3, 2009.

- BORENGASSER, S. J. et al. High Fat Diet and In Utero Exposure to Maternal Obesity Disrupts Circadian Rhythm and Leads to Metabolic Programming of Liver in Rat Offspring. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e84209, 9 jan. 2014.
- BROUSSARD, J. L.; DEVKOTA, S. The changing microbial landscape of Western society: Diet, dwellings and discordance. **Molecular Metabolism**, v. 5, n. 9, p. 737–742, set. 2016.
- CALKINS, K.; DEVASKAR, S. U. Fetal Origins of Adult Disease. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**, v. 41, n. 6, p. 158–176, jul. 2011.
- CASAS, R.; BARQUERO, S. C.; ESTRUCH, R. Impact of Sugary Food Consumption on Pregnancy: A Review. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 3574, 22 nov. 2020.
- CHANDEL, N. S. Carbohydrate Metabolism. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 13, n. 1, p. a040568, jan. 2021.
- CHEN, H. J.; GUR, T. L. Intrauterine Microbiota: Missing, or the Missing Link? **Trends in Neurosciences**, v. 42, n. 6, p. 402–413, jun. 2019.
- COLLINS, A. et al. Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols. **Nature Protocols**, v. 18, n. 3, p. 929–989, mar. 2023.
- D’ALESSANDRO, M. E. et al. Maternal sucrose-rich diet and fetal programming: changes in hepatic lipogenic and oxidative enzymes and glucose homeostasis in adult offspring. **Food & Function**, v. 5, n. 3, p. 446, 2014.
- DINIZ, Y. S. et al. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 2, p. 313–319, fev. 2004.
- DINIZ, Y. S. et al. Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. **Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 749–755, jun. 2005.
- DRAKE, A.; WALKER, B. The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. **Journal of Endocrinology**, v. 180, n. 1, p. 1–16, 1 jan. 2004.
- DUHIG, K.; CHAPPELL, L. C.; SHENNAN, A. H. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. **Obstetric Medicine**, v. 9, n. 3, p. 113–116, set. 2016.
- EMMERZAAL, T. L. et al. Impaired mitochondrial complex I function as a candidate driver in the biological stress response and a concomitant stress-induced brain metabolic reprogramming in male mice. **Translational Psychiatry**, v. 10, n. 1, p. 176, 1 jun. 2020.
- ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Em: **Methods in Enzymology**. Elsevier, 1990. v. 186p. 407–421.
- FAITH, J. J. et al. The Long-Term Stability of the Human Gut Microbiota. **Science**, v. 341, n. 6141, p. 1237439, 5 jul. 2013.
- FONTANA, S.; SOUTO, J. C. **Decifrando Rótulos. Guia de adoçantes**. [s.l.: s.n.].

- GLASTRAS, S. J. et al. Maternal obesity increases the risk of metabolic disease and impacts renal health in offspring. **Bioscience Reports**, v. 38, n. 2, p. BSR20180050, 27 abr. 2018.
- GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; PINAL, C. The developmental origins of adult disease. **Maternal & Child Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 130–141, jul. 2005.
- GODFREY, K. M. et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 5, n. 1, p. 53–64, jan. 2017.
- GUILLOTEAU, P. et al. Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man? **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 1, p. 4–22, jun. 2010.
- HALLIWELL, B. Role of Free Radicals in the Neurodegenerative Diseases: Therapeutic Implications for Antioxidant Treatment. **Drugs & Aging**, v. 18, n. 9, p. 685–716, 2001.
- HASTIE, R.; LAPPAS, M. The effect of pre-existing maternal obesity and diabetes on placental mitochondrial content and electron transport chain activity. **Placenta**, v. 35, n. 9, p. 673–683, set. 2014.
- HEERWAGEN, M. J. R. et al. Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 299, n. 3, p. R711–R722, set. 2010.
- HUANG, C. et al. Total sugar, added sugar, fructose, and sucrose intake and all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. **Nutrition**, v. 111, p. 112032, jul. 2023.
- HUSSAIN, T. et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidant Balance in Pregnancy. **Mediators of Inflammation**, v. 2021, p. 1–11, 27 set. 2021.
- JENKINS, D. J. et al. Glycemic index: overview of implications in health and disease,,,. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 1, p. 266S-273S, jul. 2002.
- KAUSAR, S.; WANG, F.; CUI, H. The Role of Mitochondria in Reactive Oxygen Species Generation and Its Implications for Neurodegenerative Diseases. **Cells**, v. 7, n. 12, p. 274, 17 dez. 2018.
- KENDIG, M. D. et al. Maltodextrin can produce similar metabolic and cognitive effects to those of sucrose in the rat☆. **Appetite**, v. 77, p. 1–12, jun. 2014.
- KISIOGLU, B.; NERGIZ-UNAL, R. 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, 3 mar. 2020.
- KRISHNA, G.; HAYASHI, M. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1–2, p. 155–166, nov. 2000.
- LAHOUEL, A. High sugar consumption for seven days in adult mice increased blood glucose variability, induced an anxiolytic effect and triggered oxidative stress in cerebral cortex. **Metabolic Brain Disease**, v. 39, n. 5, p. 731–739, 9 maio 2024.

- LANGLEY-EVANS, S. C. Early life programming of health and disease: The long-term consequences of obesity in pregnancy. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 35, n. 5, p. 816–832, out. 2022.
- LEBEL, C. P.; ISCHIROPOULOS, H.; BONDY, S. C. Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. **Chemical Research in Toxicology**, v. 5, n. 2, p. 227–231, mar. 1992.
- LEE, S. et al. A role for NADPH oxidase 4 in the activation of vascular endothelial cells by oxidized phospholipids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, n. 2, p. 145–151, jul. 2009.
- LINEKER, C. et al. High fructose consumption in pregnancy alters the perinatal environment without increasing metabolic disease in the offspring. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 28, n. 12, p. 2007, 2016.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, nov. 1951.
- LUO, Z. C. et al. Tracing the origins of “fetal origins” of adult diseases: Programming by oxidative stress? **Medical Hypotheses**, v. 66, n. 1, p. 38–44, jan. 2006.
- MAGENIS, M. L. et al. Fructose consumption during pregnancy and lactation causes DNA damage and biochemical changes in female mice. **Mutagenesis**, v. 35, n. 2, p. 179–187, 27 mar. 2020.
- MAGENIS, M. L. et al. Metabolic programming in offspring of mice fed fructose during pregnancy and lactation. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 13, n. 4, p. 441–454, ago. 2022.
- MAGENIS, M. L. et al. Maternal exercise during pregnancy modulates genotoxicity caused by high fructose consumption in mice offspring. **Mutagenesis**, v. 39, n. 2, p. 119–140, 12 mar. 2024.
- MANN, J. et al. FAO/WHO Scientific Update on carbohydrates in human nutrition: conclusions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, n. S1, p. S132–S137, dez. 2007.
- MARANGONI, F. et al. Maternal Diet and Nutrient Requirements in Pregnancy and Breastfeeding. An Italian Consensus Document. **Nutrients**, v. 8, n. 10, p. 629, 14 out. 2016.
- MAVOURNIN, K. H. et al. The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 239, n. 1, p. 29–80, jul. 1990.
- MELE, J. et al. Impaired mitochondrial function in human placenta with increased maternal adiposity. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 307, n. 5, p. E419–E425, 1 set. 2014.
- MENG, Y. et al. Sugar- and Artificially Sweetened Beverages Consumption Linked to Type 2 Diabetes, Cardiovascular Diseases, and All-Cause Mortality: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 2636, 30 jul. 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **O alto consumo de açúcar já impacta no aumento de doenças crônicas não transmissíveis.** , 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/janeiro/saude-promove-conscientizacao-sobre-o-consumo-de-acucar-em-webinario>>

MIZERA, J. et al. Maternal high-sugar diet results in NMDA receptors abnormalities and cognitive impairment in rat offspring. **The FASEB Journal**, v. 35, n. 5, maio 2021.

MØLLER, P. et al. Minimum Information for Reporting on the Comet Assay (MIRCA): recommendations for describing comet assay procedures and results. **Nature Protocols**, v. 15, n. 12, p. 3817–3826, dez. 2020.

MORATOYA, E. E. et al. Mudanças no padrão de consumo alimentar no Brasil e no mundo. v. 22, 2013.

MORELI, J. B. et al. DNA Damage and Its Cellular Response in Mother and Fetus Exposed to Hyperglycemic Environment. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–9, 2014.

MOYNIHAN, P. J.; KELLY, S. A. M. Effect on Caries of Restricting Sugars Intake: Systematic Review to Inform WHO Guidelines. **Journal of Dental Research**, v. 93, n. 1, p. 8–18, jan. 2014.

MUÑOZ, A.; COSTA, M. Nutritionally Mediated Oxidative Stress and Inflammation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, p. 1–11, 2013.

NELSON, D.; COX, M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 7^a ed. Artmed, 2018.

NERI, C.; EDLOW, A. G. Effects of Maternal Obesity on Fetal Programming: Molecular Approaches. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, n. 2, p. a026591, fev. 2016.

OCDE. **Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. This Guideline was adopted by the OCDE.** , 2016.

OKOYE, C. N.; KOREN, S. A.; WOJTOVICH, A. P. Mitochondrial complex I ROS production and redox signaling in hypoxia. **Redox Biology**, v. 67, p. 102926, nov. 2023.

OTHMAN, E. M. et al. Insulin-Mediated Oxidative Stress and DNA Damage in LLC-PK1 Pig Kidney Cell Line, Female Rat Primary Kidney Cells, and Male ZDF Rat Kidneys In Vivo. **Endocrinology**, v. 154, n. 4, p. 1434–1443, 1 abr. 2013.

PALANCH, A. C.; CAMPOS, C. D. S. B. Nutrição materna e programação fetal: o papel dos hábitos alimentares no desenvolvimento embrionário e pós-natal. **Saúde em Revista**, v. 17, n. 45, p. 49, 3 maio 2017.

PODZIMEK, Š. et al. The Evolution of Taste and Perinatal Programming of Taste Preferences. **Physiological Research**, p. S421–S429, 30 nov. 2018.

QUINLAN, C. L. et al. Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates. **Redox Biology**, v. 1, n. 1, p. 304–312, 2013.

SÁNCHEZ-HUERTA, K. et al. Sucrose Consumption during Late Adolescence Impairs Adult Neurogenesis of the Ventral Dentate Gyrus without Inducing an Anxiety-like Behavior. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 22, p. 14176, 16 nov. 2022.

SAPATA, K. B.; FAYH, A. P. T.; OLIVEIRA, A. R. D. Efeitos do consumo prévio de carboidratos sobre a resposta glicêmica e desempenho. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n. 4, p. 189–194, ago. 2006.

SCAPIN, T. **Notificação dos açúcares de adição em rótulos de alimentos industrializados comercializados no Brasil**. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Nutrição), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

SCLAFANI, A.; XENAKIS, S. Influence of diet form on the hyperphagia-promoting effect of polysaccharide in rats. **Life Sciences**, v. 34, n. 13, p. 1253–1259, mar. 1984.

SHANKAR, K. et al. Carbohydrate-Responsive Gene Expression in the Adipose Tissue of Rats. **Endocrinology**, v. 151, n. 1, p. 153–164, 1 jan. 2010a.

SHANKAR, K. et al. Maternal Overweight Programs Insulin and Adiponectin Signaling in the Offspring. **Endocrinology**, v. 151, n. 6, p. 2577–2589, 1 jun. 2010b.

SILVA, M. A. et al. O consumo de produtos ultraprocessados está associado ao melhor nível socioeconômico das famílias das crianças. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, n. 11, p. 4053–4060, nov. 2019.

SILVEIRA, P. P. et al. Developmental origins of health and disease (DOHaD). **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 6, p. 494–504, 30 nov. 2007.

STAMATAKI, N. S. et al. Mapping the Homeostatic and Hedonic Brain Responses to Stevia Compared to Caloric Sweeteners and Water: A Double-Blind Randomised Controlled Crossover Trial in Healthy Adults. **Nutrients**, v. 14, n. 19, p. 4172, 7 out. 2022.

STEFANATOS, R.; SANZ, A. The role of mitochondrial ROS in the aging brain. **FEBS Letters**, v. 592, n. 5, p. 743–758, mar. 2018.

STEPHANIE, O.-V. S.; ROTHER, K. I.; HANOVER, J. A. Maternal Exposure to Non-nutritive Sweeteners Impacts Progeny's Metabolism and Microbiome. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1360, 20 jun. 2019.

SULTANA, Z. et al. Oxidative stress, placental ageing-related pathologies and adverse pregnancy outcomes. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 77, n. 5, p. e12653, maio 2017.

TAMPO, Y. et al. Oxidative Stress-Induced Iron Signaling Is Responsible for Peroxide-Dependent Oxidation of Dichlorodihydrofluorescein in Endothelial Cells: Role of Transferrin Receptor-Dependent Iron Uptake in Apoptosis. **Circulation Research**, v. 92, n. 1, p. 56–63, 10 jan. 2003.

TAYLOR, P. D. et al. Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 1, p. R134–R139, jan. 2005.

TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Developmental programming of obesity in mammals. **Experimental Physiology**, v. 92, n. 2, p. 287–298, mar. 2007.

TE MORENGA, L.; MALLARD, S.; MANN, J. Dietary sugars and body weight: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials and cohort studies. **BMJ**, v. 346, n. jan15 3, p. e7492–e7492, 15 jan. 2012.

VIGITEL. **Vigitel Brasil 2006-2023 : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico : estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica do estado nutricional e consumo alimentar nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal entre 2006 e 2023 : estado nutricional e consumo alimentar [recurso eletrônico]**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Departamento de Análise Epidemiológica e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. – Brasília, , 2024.

VIGITEL BRASIL. **Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. , 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-contenido/publicacoes/svsa/vigitel/vigitel-brasil-2023-vigilancia-de-fatores-de-risco-e-protecao-para-doencas-cronicas-por-inquerito-telefonico/view>>

WEEDEN, C. E.; ASSELIN-LABAT, M.-L. Mechanisms of DNA damage repair in adult stem cells and implications for cancer formation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1864, n. 1, p. 89–101, jan. 2018.

WENG, J.; SALAZAR, N. DNA Methylation Analysis Identifies Patterns in Progressive Glioma Grades to Predict Patient Survival. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 3, p. 1020, 20 jan. 2021.

WHO (ED.). **Obesity and overweight [internet]**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>

WOF, **Obesity Atlas**. 2023. Disponível em: <<https://data.worldobesity.org/publications/?cat=19>>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Information note about intake of sugars recommended in the WHO guideline for adults and children**. Genebra, 2015. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028>>

YAGI, K. Simple Assay for the Level of Total Lipid Peroxides in Serum or Plasma. Em: ARMSTRONG, D. (Ed.). **Free Radical and Antioxidant Protocols**. New Jersey: Humana Press, 1998. v. 108p. 101–106.

YAYA, S. et al. Intake of supplementary food during pregnancy and lactation and its association with child nutrition in Timor Leste. **PeerJ**, v. 6, p. e5935, 15 nov. 2018.

ANEXO A – CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, 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 **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **22/02/2022**.

| | |
|---|--|
| Título do projeto | Avaliação da programação fetal através do consumo de maltodextrina e sacarose em camundongos fêmeas tratadas durante a gravidez e lactação |
| Project title | Evaluation of fetal programming through maltodextrin and sucrose consumption in female mice treated during pregnancy and lactation. |
| Número do protocolo Protocol number | 67/2021 adendo |
| Pesquisador principal Principal Investigator | Vanessa Moraes de Andrade |
| Pesquisadores Researchers | Schellen de Córdova Kindermann, Luiza Martins Longaretti, Adriani Paganini Damiani, Marina Lummertz Magenis, Carla de Oliveira Bauer, Isadora de Oliveira Monteiro, Nicollas dos Santos da Silva, João Vitor Antunes de Lima, Leticia Zanatta Alberton, Alexandra Maia Oliveira Rocha. |

| | |
|--------------------------------|--------------------------------------|
| Finalidade | () Ensino (X) Pesquisa Científica |
| Vigência da autorização | 14/02/2022 a 30/05/2022 |
| Espécie/linhagem/raça | Camundongo isogênico / Swiss |
| Idade/Peso | Matriz (60 dias) / 30-35g |
| Número de animais | Masculino 30 e feminino 30 = 60 |
| Idade/Peso | Neonatos até 30 dias / 5 – 35g |
| Número de animais | Masculino 30 e feminino 30 = 60 |
| Total | 120 |
| Procedência | Biotério UNESC |

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.

Criciúma-SC, 22 de fevereiro de 2022.

Josiane Budni
Josiane Budni

Coordenadora da CEUA