

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

EFEITO DA DIETA RICA EM CARBOIDRATOS SIMPLES E DO
TREINAMENTO FÍSICO NA EXPRESSÃO DE BIOMARCADORES
EPIGENÉTICOS RENAIIS EM RATOS

Deborah Campos Oliveira

Ouro Preto
2019

Deborah Campos Oliveira

**EFEITO DA DIETA RICA EM CARBOIDRATOS SIMPLES E DO
TREINAMENTO FÍSICO NA EXPRESSÃO DE BIOMARCADORES
EPIGENÉTICOS RENAIIS EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos integrantes para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, área de concentração em Genômica e Proteômica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Renata Guerra de Sá
Cota

Coorientadora: Dr.^a Natália Rocha Barboza

Ouro Preto

2019

O41e

Oliveira, Deborah Campos.

Efeito da dieta rica em carboidratos simples e do treinamento físico na expressão de biomarcadores epigenéticos renais em ratos [manuscrito] / Deborah Campos Oliveira. - 2019.

87f.: il.: color; grafs; tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Guerra de Sá Cota.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Natália Rocha Barboza.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

Área de Concentração: Genômica e Proteômica.

1. Carboidratos. 2. Natação - Trinamento. 3. Epigenética. I. Cota, Renata Guerra de Sá. II. Barboza, Natália Rocha. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 641.13



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 19 dias do mês de março do ano de 2019, às 13:30 horas, nas dependências Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas (Nupeb), foi instalada a sessão pública para a defesa de dissertação da mestranda Deborah Campos Oliveira, sendo a banca examinadora composta pela Profa. Dra. Renata Guerra de Sá Cota (Presidente - UFOP), pela Profa. Dra. Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira (Membro - UFOP), pelo Prof. Dr. Roberto Farina de Almeida (Membro - Externo). Dando início aos trabalhos, a presidente, com base no regulamento do curso e nas normas que regem as sessões de defesa de dissertação, concedeu à mestranda Deborah Campos Oliveira 40 minutos para apresentação do seu trabalho intitulado "Expressão de Biomarcadores Epigenéticos para Disfunção Renal Induzida Por Dieta Rica em Carboidrato Simples em Ratos Wistar", na área de concentração: Genômica e Proteômica. Terminada a exposição, a presidente da banca examinadora concedeu, a cada membro, um tempo para perguntas e respostas à candidata sobre o conteúdo da dissertação, na seguinte ordem: Primeiro, Profa. Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira; segundo, Prof. Roberto Farina de Almeida; terceiro, Profa. Renata Guerra de Sá Cota. Dando continuidade, ainda de acordo com as normas que regem a sessão, a presidente solicitou aos presentes que se retirassem do recinto para que a banca examinadora procedesse à análise e decisão, anunciando, a seguir, publicamente, que a mestranda foi aprovada por unanimidade, sob a condição de que a versão definitiva da dissertação deva incorporar todas as exigências da banca, devendo o exemplar final ser entregue no prazo máximo de 60 (sessenta) dias à Coordenação do Programa. Para constar, foi lavrada a presente ata que, após aprovada, vai assinada pelos membros da banca examinadora e pela mestranda. Ouro Preto, 19 de março de 2019.

Profa. Dra. Renata Guerra de Sá Cota

Presidente

Profa. Dra. Katiane de Oliveira Pinto
Coelho Nogueira

Prof. Dr. Roberto Farina de Almeida

Mestranda

*“A tua piscina tá cheia de ratos
Tuas ideias não correspondem aos fatos...
O tempo não para
Eu vejo o futuro repetir o passado
Eu vejo um museu de grandes novidades
O tempo não para”*

(Arnaldo Brandao / Cazuza)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre me conceder sabedoria nas escolhas dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar. E por me fazer acreditar que a vida vai muito além do sentido 5' → 3'.

À minha família, mãe Vera, papai Valdeci e minhas lindas irmãs Danielle e Dayarah pela motivação, apoio, confiança e amor incondicional. Que sempre me impulsiona em direção às vitórias dos meus desafios. Amo muito vocês!

Ao meu amor Marcelo Porto, por me incentivar, compreender, acompanhar e auxiliar em minhas leituras e escrita.

As minhas amigas “tetéias” e “biotops” que me acompanharam e me incentivaram durante todo esse período. Em especial a Aline Brito, Daniella Alves e Ione Caetano que me ajudaram a amadurecer ideias e conceitos.

À “nós três”... Eu, Nauhara e Thamiris pela parceria, companheirismo e por me suportarem todos os dias.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFOP: Natália, Viviano, Luciene, Thalita, Daiane, Grazi, France Anne, Isabela, Ester, Thales, Polyana, Virgínia, Joana e Yuri.

Ao Prof. Dr. Elísio Alberto Evangelista, pelo carinho, ensinamentos e por me auxiliar nos difíceis momentos de eutanásia dos animais.

À Dr.^a Natália Rocha Barboza, pela amizade, orientação, paciência e parceria.

À Prof.^a Dr.^a Renata Guerra de Sá, pela oportunidade e orientação.

Aos colegas e laboratórios do NUPEB.

Aos funcionários do Biotério.

Aos animais, pelo sacrifício em prol da ciência.

A FAPEMIG, CNPq, CAPES e UFOP, pelo auxílio financeiro e estrutural oferecido.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho, o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. <i>Aspectos gerais da obesidade.....</i>	3
2.2. <i>Obesidade e Doença Renal Crônica.....</i>	4
2.3. <i>Efeitos do treinamento físico aeróbico na obesidade.....</i>	7
2.4. <i>Efeitos da dieta na obesidade.....</i>	8
2.5. <i>Programação metabólica e epigenética.....</i>	9
2.5.1. <i>Metilação do DNA.....</i>	11
2.5.2. <i>Modificações da histona.....</i>	13
2.6. <i>Sirtuínas no tecido renal.....</i>	14
3. JUSTIFICATIVA.....	18
4. OBJETIVOS.....	20
4.1. <i>Objetivo Geral.....</i>	20
4.2. <i>Objetivos Específicos.....</i>	20
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
5.1. <i>Desenho Experimental.....</i>	21
5.1.2. <i>Treinamento aeróbico de natação com carga de trabalho.....</i>	22
5.2. <i>Determinação do ganho de massa corporal e do consumo alimentar.....</i>	23
5.3. <i>Índice de Lee e Índice de adiposidade.....</i>	24
5.4. <i>Parâmetros bioquímicos e hematológicos.....</i>	24
5.4.1. <i>Análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos.....</i>	25
5.5. <i>Dosagem de Insulina.....</i>	25
5.6. <i>Teste de Tolerância Oral a Glicose (TTOG).....</i>	26
5.7. <i>Extração de lipídeos.....</i>	26
5.8. <i>Lactato.....</i>	27
5.9. <i>Análises histológicas.....</i>	27
5.10. <i>Atividade da Superóxido Dismutase (SOD).....</i>	28
5.11. <i>Extração de RNA total.....</i>	28
5.11.1. <i>Síntese de cDNA.....</i>	29
5.11.2. <i>Seleção do controle endógeno.....</i>	29

5.11.3.	<i>Análise da expressão gênica pela técnica de PCR em tempo real (qRT-PCR)</i>	30
5.12.	<i>Análise estatística</i>	31
6.	RESULTADOS	32
6.1.	<i>Avaliação do consumo alimentar e calórico dos animais</i>	32
6.2.	<i>Análise dos parâmetros biométricos dos animais submetidos a ingestão da dieta rica em carboidratos simples e treinamento físico de natação com carga</i>	32
6.3.	<i>Índice de Lee, índice de adiposidade e peso em gramas dos órgãos e tecidos de animais de 18 semanas.</i>	33
6.5.	<i>Teste oral de tolerância a glicose, após 18 semanas de experimento.</i>	38
6.7.	<i>Análise dos níveis de lactato nos animais treinados por 18 semanas.</i>	39
6.8.	<i>Efeitos da dieta rica em carboidratos simples e do treinamento físico de natação sobre os parâmetros bioquímicos na urina e histológicos do rim.</i>	40
6.9.	<i>Avaliação do estresse oxidativo nos rins de ratos submetidos a uma dieta rica em carboidratos simples e ao treinamento físico de natação.</i>	42
6.10.	<i>Perfil de expressão mRNA de sirtuínas (1-7) no tecido renal dos animais de 18 semanas</i>	43
6.11.	<i>Perfil de expressão mRNA de metilases e desmetilases no tecido renal.</i>	45
7.	DISCUSSÃO	46
8.	CONCLUSÃO	57
9.	PERSPECTIVAS FUTURAS	58
10.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
11.	ANEXOS	70
11.1.	<i>Anexo: Laudo de análise 07945/2018</i>	70
11.3.	<i>Anexo: Laudo de análise 07947/2018</i>	72
11.4.	<i>Anexo: Laudo de análise 07948/2018</i>	73
11.5.	<i>Anexo: Laudo de análise 07949/2018</i>	74
11.6.	<i>Anexo: Laudo de análise 07950/2018</i>	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Possíveis mecanismos pelos quais a obesidade causa doença renal crônica...	06
Figura 2: Metilação do DNA.....	13
Figura 3: As sirtuínas contribuem para manter a homeostase renal e sua regulação negativa leva a doenças renais crônicas e agudas.....	17
Figura 4: Teste de tolerância a glicose obtido a partir da glicemia média dos grupos estudados	37
Figura 5: Conteúdo lipídico do tecido renal dos animais submetidos a 18 semanas de ingestão da dieta rica em carboidratos simples e treinamento físico de natação com carga.....	38
Figura 6: Avaliação dos níveis de lactato plasmático após 18 semanas de treinamento regular de natação com carga.....	38
Figura 7: Avaliação da integridade glomerular e conteúdo de colágeno total no tecido.....	40
Figura 8: Fotomicrografias de secções histológicas do tecido renal dos animais de 18 semanas.....	40
Figura 9: Perfil de expressão dos genes MnSOD, ZnSOD e Catalase no tecido renal dos animais de 18 semanas.....	Err
o! Indicador não definido.	42
Figura 10: Atividade da enzima Superóxido Dismutase dos animais de 18 semanas.....	42
Figura 11: Perfil de expressão mRNA de sirtuínas (1-7) no tecido renal dos animais de 18 semanas.....	43
Figura 12: Perfil de expressão mRNA de metilases e desmetilases no tecido renal dos animais de 18 semanas.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais características das sirtuínas.....	15
Tabela 2: Composição Nutricional das rações.....	21
Tabela 3: Protocolo de adaptação do treinamento aeróbico de natação (sem carga)	22
Tabela 4: Protocolo de treinamento aeróbico de natação com sobrecarga de peso durante 18 semanas.....	22
Tabela 5: Sequências dos primers Forward e Reverse utilizados para análise da expressão gênica.....	30
Tabela 6: Consumo alimentar (g) e Ingestão calórica (Kcal) no período de 18 semanas.....	32
Tabela 7: Ganho de massa corporal dos animais submetidos a 18 semanas de ingestão da dieta rica em carboidratos simples e treinamento físico de natação com carga.	33
Tabela 8: Índice de Lee, índice de adiposidade e peso em gramas dos órgãos e tecidos de animais de 18 semanas.....	34
Tabela 9: Parâmetros hematológicos dosados no sangue de ratos Wistar machos, após 18 semanas de experimento.	36
Tabela 10: Parâmetros bioquímicos séricos de ratos Wistar machos, após 18 semanas.....	37
Tabela 11: Parâmetros bioquímicos dosados na urina de ratos Wistar machos, após 18 semanas de experimento.	40

LISTA DE ABREVIATURAS

- ALT: Alanina Aminotransferase
- AST: Aspartato Aminotransferase
- CAT: Catalase
- CCA: Centro de Ciência Animal
- CG: Citosina-Guanina
- CpG: Citosina-fosfato-guanina
- DM: Diabetes Mellitus
- DNA: Ácido Desoxirribonucléico
- DNMT: DNA Metiltransferases
- dNTPs: Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
- DRC: Doença Renal Crônica
- DRT: Doença Renal Terminal
- EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
- ELISA: Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
- EROS: Espécies Reativas de Oxigênio
- GAPDH: Gliceraldeído 3 Fosfato Desidrogenase
- HA: Hipertensão Arterial
- HDAC's: Desacetilases de Histonas
- HDL: Lipoproteína de Alta Densidade
- HPRT1: Hipoxantina Fosforibosiltransferase 1
- IA: Índice de Adiposidade

IMC: Índice de Massa Corporal

LAPAC: Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto

LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade

NAD: Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina

OMS: Organização Mundial de Saúde

RNA: Ácido Ribonucleico

RAAS: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

SDC: Sedentário Dieta Controle

SDRC: Sedentário Dieta Rica em Carboidratos Simples

SIRT: Sirtuína

SM: Síndrome Metabólica

SNC: Sistema Nervoso Central

SNS: Sistema Nervoso Simpático

SOD: Superóxido Dismutase

SUS: Sistema Único de Saúde

TDC: Treinado Dieta Controle

TDRC: Treinado Dieta Rica em Carboidratos Simples

TETs: Enzima Dez-Onze Translocase de DNA

TFG: Taxa de Filtração Glomerular

TTOG: Teste Oral de Tolerância a Glicose

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto

RESUMO

Atualmente, não se pode afirmar como a reprogramação gênica acontece. Sabe-se que fatores ambientais como o treinamento físico e dieta podem influenciar a modulação epigenética dos tecidos levando a alterações da expressão gênica. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do consumo crônico de uma dieta isocalórica rica em carboidratos simples e do treinamento aeróbico de natação com carga sobre o desenvolvimento da obesidade e a modulação epigenética no tecido renal de animais. *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, machos recém-desmamados com aproximadamente 35 dias de vida, foram divididos entre quatro grupos: 1) sedentário dieta controle, 2) treinado dieta controle, 3) sedentário dieta rica em carboidratos simples e 4) treinado dieta rica em carboidratos simples. Os grupos 1 e 2, foram alimentados com ração comercial (Nuvilab) enquanto que os grupos 3 e 4 foram alimentados com uma ração rica em carboidratos simples. O protocolo de treinamento de natação com carga consistiu de 90 sessões (18 semanas) de 1 hora durante 5 dias da semana com aumento progressivo da carga. Foram avaliados o consumo calórico, peso corporal, pressão sanguínea, peso dos órgãos, coxins adiposos, índice de Lee, parâmetros hematológicos, bioquímicos e histológicos. A expressão dos marcadores epigenéticos: (i) sirtuínas 1 a 7, (ii) DNA metil transferases e (iii) desmetilases foram avaliados utilizando a técnica de PCR em tempo real. Também foram avaliados a expressão das enzimas envolvidas ao estresse oxidativo (SOD e Catalase) bem como a atividade SOD total. Os animais com obesidade induzida pela dieta rica em carboidratos simples apresentaram os níveis séricos de triglicérides, o índice de Lee e índice de adiposidade aumentados. Por outro lado, o treinamento físico associado à dieta rica em carboidratos simples induziu um aumento na expressão relativa dos genes MnSOD, ZnSOD, Catalase e das sirtuínas 3, 4, 5 e 6. Quanto a expressão de mRNA de metilases e desmetilases no tecido renal, observamos que o treino aumentou a expressão relativa de Dnmt3a, Dnmt3b, Tet2 e Tet3. Já a dieta rica em carboidratos simples diminuiu a expressão de Dnmt1 e Dnmt3b. Em conjuntos, os dados obtidos permitem concluir que a associação da dieta rica em carboidratos simples e treinamento aeróbico de natação induziu aumento da expressão das sirtuínas mitocondriais 3, 4 e 5 sugerindo uma melhora na capacidade oxidativa do tecido renal. A associação dieta rica em carboidratos simples e treinamento aeróbico de natação induziu o aumento na expressão das enzimas envolvida na metilação de novo e na desmetilação, sugerindo reprogramação epigenética ao nível do DNA. Os genes testados podem apresentar um possível potencial como biomarcadores em resposta e acompanhamento ao agravo do metabolismo no tecido renal em resposta a instalação de um quadro de obesidade.

Palavras-chave: biomarcadores, epigenética, expressão gênica, metabolismo renal, obesidade

ABSTRACT

Nowadays, it could not be explained how a genetic reprogramming happens. It knows that environmental factor as practices of physical exercises and diet can influence a tissue epigenetic modulation leading to changes in gene expression. The objective of this work was to evaluate the effect of chronic consumption of a isocaloric high-sugar diet and an aerobic training with work load on obesity development and an epigenetic modulation without renal tissue of animals. *Rattus norvegicus* Wistar, newly weaned males with approximately 35 days of life, were divided into four groups: 1) sedentary diet control, 2) trained diet control, 3) sedentary diet rich in simple carbohydrate and 4) trained high-sugar diet rich. Groups 1 and 2 were fed with commercial diet (Nuvilab) while groups 3 and 4 were fed a high-sugar diet. The swim training protocol consisted of 90 sessions (18 weeks) of 1 hour during 5 days a week with progressive increase of the load. Caloric intake, body weight, blood pressure, adipose cushions, Lee index, hematological, biochemical and histological parameters were evaluated. The expression of epigenetic markers: (i) sirtuins 1 to 7, (ii) DNA methyl transferases and (iii) demethylases were evaluated using the real-time PCR technique. The expression of enzymes involved in oxidative stress (SOD and Catalase) as well as total SOD activity were also evaluated. Obesity animals induced by the high-sugar diet showed an increased on serum triglyceride levels, Lee index and adiposity index. On the other hand, physical training induced an increase in the relative expression of the MnSOD, ZnSOD, Catalase and the 3, 4, 5 and 6 sirtuins genes. Regarding mRNA expression of methylases and demethylases in renal tissue, we observed that the training increased the relative expression of Dnmt3a, Dnmt3b, Tet2 and Tet3. Taken together, the data showed that the association of high-sugar diet and the aerobic training up regulated the mitochondrial expression of sirtuins 3, 4 and 6, in order to improve the oxidative capacity of the renal tissue. A high-sugar diet and training aerobic also increased the expression of enzymes involved in DNA *de novo* methylation and demethylation, suggesting an epigenetic reprogramming at DNA level. The genes tested may present a potential as a biomarker in response to and follow-up of worsening of renal metabolism in response to an onset of obesity.

Key words: biomarkers, epigenetics, gene expression, renal metabolism, obesity

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é classificada como uma doença crônica de causa multifatorial dependente de fatores genéticos, comportamentais, ambientais, sociais e metabólicos. A mesma é caracterizada pelo acúmulo exacerbado de tecido adiposo no organismo. A incidência da obesidade no mundo cresceu assustadoramente nas últimas décadas, especialmente em países em desenvolvimento^{1,2,3}.

Indivíduos obesos, possuem maior risco em desenvolver doenças renais, devido a um possível mecanismo compensatório de hiperfiltração para atender maiores demandas metabólicas associadas ao aumento de massa corporal. Outras doenças comorbidades a obesidade, tais como a hipertensão e a diabetes, também têm um impacto relevante no desenvolvimento da doença renal terminal⁴.

De acordo com a Sociedade Brasileira de Nefrologia os rins são classificados como órgãos vitais, pois participam do equilíbrio químico interno do corpo. Os mesmos são responsáveis por funções, tais como: eliminação de substâncias nocivas ao organismo, regulação da formação do sangue e dos ossos, regulação da pressão sanguínea, controle hidroeletrólítico e equilíbrio do pH sanguíneo.⁵ A diminuição progressiva da função renal, implica no comprometimento de todos os outros órgãos.⁶

Além disso, estudos relatam que as doenças renais se manifestam clinicamente, quando há o comprometimento de 50% a 75% da função renal. Por este motivo, podemos dizer que os biomarcadores utilizados na prática clínica atual, não permitem o diagnóstico

¹ COUTINHO, Walmir, Consenso latino-americano de obesidade, **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 43, n. 1, p. 21–67, 1999.

² WHO | Obesity and other diet-related chronic diseases list of publications, WHO, disponível em: <<https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/en/>>, acesso em: 21 fev. 2019.

³ **Development of a Brief Measure to Assess Quality of Life in Obesity - Kolotkin - 2001 - Obesity Research - Wiley Online Library**, disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1038/oby.2001.13>>, acesso em: 21 fev. 2019.

⁴ KOVESDY, Csaba P.; FURTH, Susan L.; ZOCCALI, Carmine, Obesity and kidney disease: hidden consequences of the epidemic, **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 39, n. 1, 2017.

⁵ ⁵Compreendendo os rins.

⁶ .⁶BASTOS, Marcus Gomes; BREGMAN, Rachel; KIRSZTAJN, Gianna Mastroianni, Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável, **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 2, p. 248–253, 2010.

precoce da disfunção renal. Por isso existe a necessidade de serem desenvolvidos novos biomarcadores para o diagnóstico, prognóstico e monitoramento da doença⁷.

O estilo de vida sedentário e os maus hábitos alimentares têm contribuído para o aumento da prevalência de obesidade e outras doenças crônicas^{8,9}. Atualmente, sabe-se que fatores epigenéticos, como a composição dietética durante os períodos pré e pós-natal são capazes de alterar permanentemente o metabolismo¹⁰. Estudos recentes, mostram que a reprogramação epigenética é reversível e pode acontecer em qualquer período da vida¹¹.

⁷ DUSSE, Luci *et al*, **Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente?**, Revista RBAC, disponível em: <<http://www.rbac.org.br/artigos/biomarcadores-da-funcao-renal-do-que-dispomos-atualmente/>>, acesso em: 21 jan. 2019.

⁸ PENG, Yongdong *et al*, MicroRNAs: Emerging roles in adipogenesis and obesity, **Cellular Signalling**, v. 26, n. 9, p. 1888–1896, 2014.

⁹ **Vascular stiffness in insulin resistance and obesity**, disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4536384/>>, acesso em: 23 fev. 2019.

¹⁰ LEE, Ho-Sun, Impact of Maternal Diet on the Epigenome during In Utero Life and the Developmental Programming of Diseases in Childhood and Adulthood, **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 9492–9507, 2015.

¹¹ BISHOP, Karen S.; FERGUSON, Lynnette R., The Interaction between Epigenetics, Nutrition and the Development of Cancer, **Nutrients**, v. 7, n. 2, p. 922–947, 2015.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da obesidade

A obesidade é classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um grave problema saúde pública no mundo. Estima-se que em 2025, aproximadamente 7 milhões de adultos estejam obesos e 2,3 bilhões com sobrepeso. Alguns levantamentos apontam que mais de 50% dos brasileiros está na faixa de sobrepeso e obesidade¹². A obesidade é um distúrbio metabólico crônico associado principalmente ao perfil alimentar e ao sedentarismo. A OMS define a obesidade como o acúmulo excessivo de gordura no corpo, que traz prejuízos à saúde, e a classifica como uma doença. Um estudo recente mostra que no Brasil a doença teve crescimento mais expressivo em famílias de baixa renda. Por estes motivos, nos últimos quinze anos a obesidade se tornou objeto de políticas públicas, sendo o Sistema Único de Saúde (SUS) o principal instrumento de ações proposto pelo Ministério da Saúde¹³.

De acordo com a OMS a obesidade se baseia no Índice de Massa Corporal (IMC), que é calculado dividindo-se o peso pelo quadrado da altura. O IMC na faixa entre 18,5 e 24,99 kg/m² é considerado um peso dentro dos parâmetros de normalidade. Já um IMC entre 25 e 29,99 kg/m² é avaliado como sobrepeso e um IMC > 30 kg/m² como obeso^{14,15}. Contrapondo, outros estudos sugerem a circunferência da cintura como uma medida mais apropriada do que o índice de massa corporal para avaliar os riscos associados à obesidade¹⁶. Apesar de ser facilmente calculado, o IMC é uma estimativa imprecisa da distribuição de massa gorda, já que indivíduos com mais gordura subcutânea ou hipertrofia muscular podem ter o IMC tão alto quanto indivíduos com maior gordura intra-abdominal¹⁷.

¹² Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica.

¹³ ¹³DIAS, Patricia Camacho *et al*, Obesidade e políticas públicas: concepções e estratégias adotadas pelo governo brasileiro, **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, n. 7, 2017.

¹⁴ WHO :: **Global Database on Body Mass Index**, disponível em: <http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html>, acesso em: 14 fev. 2019.

¹⁵ KOVESDY; FURTH; ZOCCALI, Obesity and kidney disease.

¹⁶ POSTORINO, Maurizio *et al*, Abdominal Obesity and All-Cause and Cardiovascular Mortality in End-Stage Renal Disease, **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 15, p. 1265–1272, 2009.

¹⁷ KOVESDY; FURTH; ZOCCALI, Obesity and kidney disease.

2.2. Obesidade e Doença Renal Crônica

A obesidade é um problema ainda mais grave, pois está relacionada a outros distúrbios metabólicos tais como as dislipidemias, hipertensão e diabetes. Em relação à Doença Renal Crônica (DRC), evidências indicam que o aumento da prevalência da DRC possa estar associado à obesidade, porém pouca atenção se tem prestado na ligação entre o aumento de peso corporal e a DRC^{18,19}.

Um estudo publicado em 2004, associou o aumento do IMC com o risco em desenvolver Doença Renal Terminal (DRT). Esse trabalho concluiu que o tratamento e a prevenção da obesidade são importantes estratégias para reduzir fatores contribuintes para o desenvolvimento de DRT²⁰. Uma outra pesquisa, avaliou que o desenvolvimento de doença renal depende da distribuição de gordura no corpo. E que, indivíduos magros com distribuição de gordura abdominal (central), assim como os indivíduos obesos e com sobrepeso, também correm o risco de diminuição da função renal²¹.

Há evidências ainda de que a obesidade provoca o aumento da excreção urinária de proteínas e, em alguns casos, leva à síndrome nefrótica devido à perda gradual da função do néfron, que agrava com o tempo e acentua a hipertensão. Em pacientes obesos o aumento do desenvolvimento de diabetes tipo II, dentre outros, acelera o desenvolvimento da DRC²². Devido à forte ligação entre a hipertensão, diabetes e adiposidade visceral, a obesidade deve ser considerada como uma determinante importante para a DRC. Entretanto, evidências indicam que a obesidade pode aumentar o risco de disfunção renal independente de hipertensão e diabetes^{23,24}.

¹⁸ HALL, John E. *et al*, Is obesity a major cause of chronic kidney disease?, **Advances in Renal Replacement Therapy**, v. 11, n. 1, p. 41–54, 2004.

¹⁹ KOVESDY; FURTH; ZOCCALI, Obesity and kidney disease.

²⁰ ISEKI, Kunitoshi *et al*, Body mass index and the risk of development of end-stage renal disease in a screened cohort, **Kidney International**, v. 65, n. 5, p. 1870–1876, 2004.

²¹ PINTO-SIETSMA, Sara-Joan *et al*, A central body fat distribution is related to renal function impairment, even in lean subjects, **American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation**, v. 41, n. 4, p. 733–741, 2003.

²² SILVA JUNIOR, Geraldo Bezerra da *et al*, Obesity and kidney disease, **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 39, n. 1, 2017.

²³ HALL *et al*, Is obesity a major cause of chronic kidney disease?

²⁴ EJERBLAD, Elisabeth *et al*, Obesity and risk for chronic renal failure, **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 17, n. 6, p. 1695–1702, 2006.

A obesidade pode causar alterações glomerulares caracterizadas por hiperfiltração e hipertensão glomerular, vasodilatação da arteríola aferente, alterações estas que servem como mecanismos compensatórios para manter o equilíbrio eletrolítico de sódio. Esses danos são provocados, principalmente, por anormalidades lipídicas que geralmente acometem pacientes obesos e podem contribuir para o desenvolvimento de glomeruloesclerose, provocando microalbuminúria²⁵.

É comum pacientes obesos com síndrome nefrótica apresentarem hiperlipidemia, com níveis de triglicerídeos, Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL) e Lipoproteína Total elevados, bem como níveis reduzidos da Lipoproteína de Alta Densidade (HDL)^{26,27}. A avaliação clínica mais utilizada para mensurar a função renal é feita a partir da Taxa de Filtração Glomerular (TFG). A mesma é definida como *clearance* de uma substância a partir do sangue. Na prática laboratorial a TFG é estimada por meio de métodos que dependem das dosagens de creatinina urinária, creatinina sérica e fluxo urinário em 24 horas^{28,29}.

Estudos com indivíduos consideravelmente obesos, porém “metabolicamente saudáveis”, sugerem que o aumento de peso isoladamente não induz dano renal³⁰. Por isso é importante conhecer mecanismos capazes de interferir no ganho de massa corporal, assim como caracterizar fenômenos que precedem a obesidade e as doenças metabólicas, tais como hipertensão, resistência à insulina, diabetes tipo II. A figura 1 mostra resumidamente a relação entre obesidade e DRC.

²⁵ .²⁵KHAWALI, Cristina; ANDRIOLO, Adagmar; FERREIRA, Sandra Roberta G., Benefícios da atividade física no perfil lipídico de pacientes com diabetes tipo 1, **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, n. 1, p. 49–54, 2003, p. 1.

²⁶ SILVA, Rafael de Assis da *et al*, Estudo do perfil lipídico em crianças e jovens do ambulatório pediátrico do Hospital Universitário Antônio Pedro associado ao risco de dislipidemias, **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 2, p. 95–101, 2007.

²⁷ ²⁷WHEELER, David C.; BERNARD, David B., Lipid Abnormalities in the Nephrotic Syndrome: Causes, Consequences, and Treatment, **American Journal of Kidney Diseases**, v. 23, n. 3, p. 331–346, 1994.

²⁸ ²⁸OLIVEIRA, Joice Barbosa *et al*, COMPARAÇÃO ENTRE CREATININA E CISTATINA C PARA AVALIAÇÃO DE FUNÇÃO RENAL, **CIPEEX**, p. 1221–1222, 2019.

²⁹ Standardization of renal function evaluation in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) from the Federal University of Juiz de Fora's colony, **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 36, n. 2, p. 139–149, 2014.

³⁰ BLÜHER, Matthias, The distinction of metabolically “healthy” from “unhealthy” obese individuals, **Current Opinion in Lipidology**, v. 21, n. 1, p. 38–43, 2010.

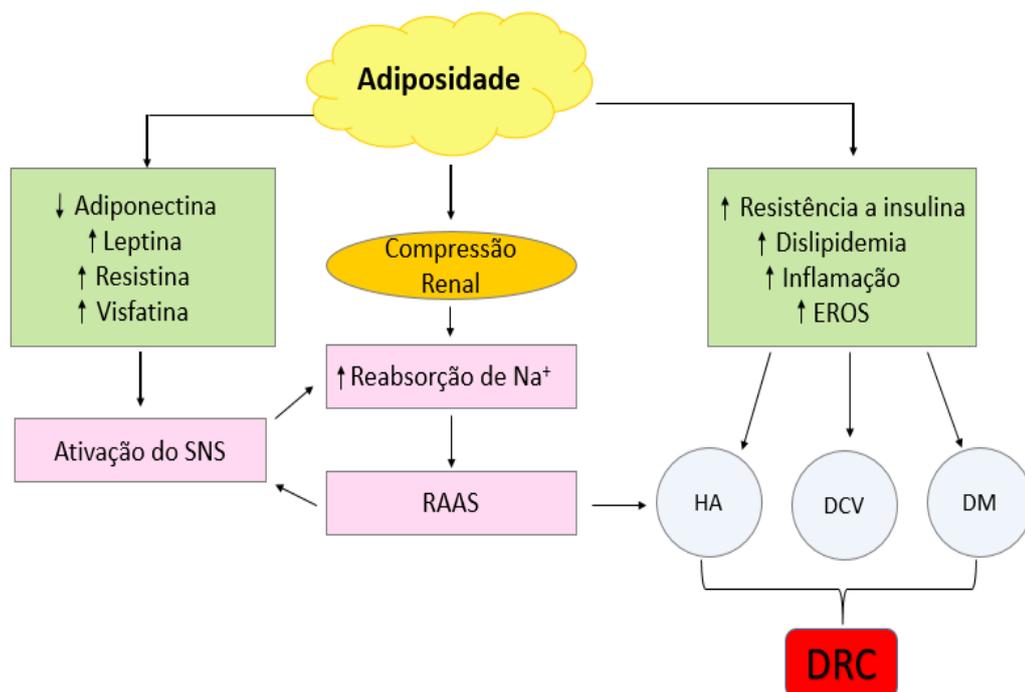


FIGURA 1: Possíveis mecanismos pelos quais a obesidade causa doença renal crônica. A DRC pode ser ocasionada pelo o aumento da adiposidade, pois além de comprimir fisicamente os rins, a mesma ativa o Sistema Nervoso Simpático (SNS) e o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAAS)³¹, induzindo a atividade endócrina do tecido adiposo através da produção de adipocinas: adiponectina³², leptina³³, resistina³⁴, visfatina³⁵. Isso acarreta em alterações metabólicas tais como a resistência à insulina^{36,37}, dislipidemia³⁸, inflamação³⁹, aumento na produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS)⁴⁰ e desenvolvimento de comorbidades à obesidade⁴¹. Fonte: Hall *et al*, 2014(adaptada)⁴².

³¹ HALL, Michael E *et al*, Obesity, hypertension, and chronic kidney disease, **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, v. 7, p. 75–88, 2014.

³² SHARMA, Kumar, The link between obesity and albuminuria: adiponectin and podocyte dysfunction, **Kidney International**, v. 76, n. 2, p. 145–148, 2009.

³³ WOLF, Gunter; ZIYADEH, Fuad N., Leptin and renal fibrosis, **Contributions to Nephrology**, v. 151, p. 175–183, 2006.

³⁴ ELLINGTON, Allison A. *et al*, Association of plasma resistin with glomerular filtration rate and albuminuria in hypertensive adults, **Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)**, v. 50, n. 4, p. 708–714, 2007.

³⁵ SETHI, Jaswinder K.; VIDAL-PUIG, Antonio, Visfatin: the missing link between intra-abdominal obesity and diabetes?, **Trends in Molecular Medicine**, v. 11, n. 8, p. 344–347, 2005.

³⁶ OTERDOOM, Leendert H. *et al*, Fasting insulin modifies the relation between age and renal function, **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 22, n. 6, p. 1587–1592, 2007.

³⁷ **Role of Insulin Resistance in Human Disease | Diabetes**, disponível em: <<http://diabetes.diabetesjournals.org/content/37/12/1595.short>>, acesso em: 14 fev. 2019.

³⁸ RUAN, Xiong Z.; VARGHESE, Zac; MOORHEAD, John F., An update on the lipid nephrotoxicity hypothesis, **Nature Reviews. Nephrology**, v. 5, n. 12, p. 713–721, 2009.

³⁹ BASTARD, Jean-Philippe *et al*, Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance, **European Cytokine Network**, v. 17, n. 1, p. 4–12, 2006.

⁴⁰ FURUKAWA, Shigetada *et al*, Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome, **The Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 12, p. 1752–1761, 2004.

⁴¹ KOVESDY; FURTH; ZOCCALI, Obesity and kidney disease.

⁴² HALL *et al*, Obesity, hypertension, and chronic kidney disease.

2.3. Efeitos do treinamento físico aeróbico na obesidade

O primeiro passo para controlar a obesidade é diminuir o peso corporal através da restrição calórica e da prática de atividade física⁴³. Mudanças no estilo de vida, como por exemplo a prática de exercícios físicos e o consumo de uma dieta equilibrada, colaboram para a melhoria dos parâmetros metabólicos⁴⁴, como: lipídios plasmáticos, glicemia, pressão arterial e marcadores do estresse oxidativo. Atualmente, sabe-se que a prática de atividade física também consome uma grande quantidade de oxigênio, ocasionando o aumento na produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS). Evidências sugerem que a alta exposição à glicose e às EROS contribuem para a nefropatia diabética e apoptose de podócitos⁴⁵. Por outro lado, estudos relataram que o exercício aeróbico apresenta efeitos renoprotetores em indivíduos diabéticos, embora estes mecanismos ainda não estejam bem compreendidos⁴⁶.

Em uma revisão realizada por Johansen e Painter, observou-se que nenhum estudo examinou com rigor o efeito do treinamento físico sobre as alterações da função renal, no entanto ressalta que nenhum estudo até hoje comprovou um efeito negativo do exercício na progressão da DRC. Neste estudo, constatou-se que o treinamento físico aeróbico pode levar a uma diminuição da proteinúria e um menor índice de esclerose glomerular em ratos após nefrectomia⁴⁷.

⁴³ *Ibid.*

⁴⁴ CIOLAC, Emmanuel Gomes; GUIMARÃES, Guilherme Veiga, Physical exercise and metabolic syndrome, **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 319–324, 2004.

⁴⁵ ⁴⁵VASCONCELOS, Sandra Mary Lima *et al*, Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: main analytical methods for their determination, **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323–1338, 2007.

⁴⁶ ⁴⁶BÖHM, Joseane; MONTEIRO, Mariane Borba; THOMÉ, Fernando Saldanha, Effects of aerobic exercise during haemodialysis in patients with chronic renal disease: a literature review, **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 34, n. 2, p. 189–194, 2012.

⁴⁷ JOHANSEN, Kirsten L.; PAINTER, Patricia, Exercise in Individuals with CKD, **American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation**, v. 59, n. 1, p. 126–134, 2012.

2.4. Efeitos da dieta na obesidade

Como dito anteriormente, a obesidade está associada a DRC por induzir doenças como a Hipertensão Arterial (HA), Diabetes Mellitus (DM) e adiposidade⁴⁸. A obesidade pode ser favorecida pela dieta, como por exemplo na dieta ocidental, onde é comum o consumo de dietas ricas em carboidratos, as quais produzem uma alta resposta glicêmica, resultando em ganho de massa corporal⁴⁹.

A maioria dos estudos recentes relacionam a dieta rica em lipídeos à doenças renais. Pesquisas realizados em roedores, mostram que a dieta rica em gordura altera o balanço entre a lipogênese e lipólise renal, podendo ocasionar em acúmulo de lipídeos e lesão renal⁵⁰.

Outros estudos indicam também que a lesão renal sucede a disfunção endotelial, pois experimentos realizados em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos alimentados com uma dieta hiperlipídica mostraram que a obesidade associada a hipertensão induz resposta inflamatória e rompimento da barreira de filtração renal⁵¹.

O grupo de ANDRICH *et al.* (2018) mostrou que uma dieta rica em gordura ofertada a ratos Wistar em um curto prazo de tempo (14 dias), contribuiu para o desequilíbrio da homeostase corporal e prejudicou a sono e a saciedade, desregulou o balanço entre o armazenamento e gasto energético e por fim alterou a composição corporal e o metabolismo de glicose e lipídeos⁵².

Pouco se sabe sobre a influência da dieta rica em carboidratos simples com a DRC. Contudo, a dieta rica em carboidratos simples pode induzir as mesmas alterações metabólicas desencadeadas pela dieta rica em lipídeos.

⁴⁸ KOVESDY; FURTH; ZOCCALI, Obesity and kidney disease.

⁴⁹ BRAND-MILLER, Janette C. *et al*, Glycemic index and obesity, **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 1, p. 281S-285S, 2002.

⁵⁰ KUME, Shinji *et al*, Role of Altered Renal Lipid Metabolism in the Development of Renal Injury Induced by a High-Fat Diet, **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, n. 10, p. 2715–2723, 2007.

⁵¹ KNIGHT SARAH F. *et al*, Endothelial Dysfunction and the Development of Renal Injury in Spontaneously Hypertensive Rats Fed a High-Fat Diet, **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 352–359, 2008.

⁵² ANDRICH, David E. *et al*, **Altered Feeding Behaviors and Adiposity Precede Observable Weight Gain in Young Rats Submitted to a Short-Term High-Fat Diet**, *Journal of Nutrition and Metabolism*, disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jnme/2018/1498150/>>, acesso em: 16 fev. 2019.

LUZ *et al.*, publicaram em 2018 um estudo sobre as propriedades da ração rica em sacarose, o qual mostrou que ratos Wistar alimentados por 17 semanas com uma dieta de alto índice glicêmico, apresentaram índice adiposidade, massa do tecido adiposo visceral e massa corporal aumentados quando comparado aos animais alimentados com a dieta controle. Resultados deste estudo, sugerem que essa dieta rica em sacarose foi capaz de induzir alterações metabólicas comumente causadas por dietas com alto teor de gordura ou ricas em frutose.

Dados do nosso laboratório mostram que uma dieta rica em carboidratos leva ao aumento no índice de adiposidade e alterações no metabolismo de lipídeos, aumentando LDL, triglicerídeos e resistência à insulina⁵³. Foi possível avaliar também alterações sob os parâmetros metabólicos e modulação gênica⁵⁴. Esses fatos sugerem que essa dieta também possa levar a uma disfunção renal, culminado numa perda de função dos rins.

2.5. Programação metabólica e epigenética

A programação metabólica é um evento desencadeado por alterações hormonais e ou nutricionais que modulam fases iniciais ao desenvolvimento, promovendo conformações morfológicas, funcionais e metabólicas⁵⁵. A mesma tem por finalidade melhorar a sobrevivência da prole utilizando os nutrientes disponíveis de forma mais eficiente⁵⁶. Pesquisas sugerem que o estado metabólico e o grau de adiposidade materna, podem

⁵³ DE QUEIROZ, Karina Barbosa *et al.*, Molecular mechanism driving retroperitoneal adipocyte hypertrophy and hyperplasia in response to a high-sugar diet, **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 58, n. 12, p. 2331–2341, 2014.

⁵⁴ *Ibid.*

⁵⁵ WATERLAND, Robert A.; GARZA, Cutberto, Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease, **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 179–197, 1999.

⁵⁶ SULLIVAN, Elinor L.; SMITH, M. Susan; GROVE, Kevin L., Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood, **Neuroendocrinology**, v. 93, n. 1, p. 1–8, 2011.

repercutir no estado de saúde da prole^{57,58,59}. Diferentes estudos demonstram como situações nutricionais adversas, tais como, a hipernutrição e a desnutrição materna podem contribuir para o risco da prole em desenvolver a obesidade e suas complicações na idade adulta⁶⁰.

A programação metabólica tem sido estudada em vários tecidos, como por exemplo no Sistema Nervoso Central (SNC), onde os efeitos da dieta podem variar de acordo com o tempo de exposição, a concentração e a precocidade da hipernutrição⁶¹. Já no fígado, a programação metabólica pode desencadear uma menor sensibilidade tecidual aos hormônios⁶². No pâncreas, estudos realizados em roedores relatam que a hipernutrição durante o período de lactação promove hipertrofia em ilhotas pancreáticas⁶³. No tecido renal, foi realizado um estudo em roedores, onde a programação metabólica renal ocasionada pela obesidade materna, foi apresentada em duas fases. Na fase inicial, a obesidade precoce de filhotes de mães obesas foi associada a níveis elevados de adipocinas circulantes. E na fase tardia, a prole de mães obesas apresentaram aumento de retenção de sódio associada a resistência a leptina, e também características fibróticas renais⁶⁴.

A programação metabólica pode ser explicada a nível molecular pela alteração da expressão gênica. Anteriormente, acreditava-se que a modulação gênica acontecia por meio apenas de alterações na sequência gênica. Atualmente sabe-se que a modulação gênica pode ocorrer também a partir de alterações ambientais, principalmente quando

⁵⁷ BARKER, D. J. P., The origins of the developmental origins theory, **Journal of Internal Medicine**, v. 261, n. 5, p. 412–417, 2007.

⁵⁸ **Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood.** - PubMed - NCBI, disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21079387>>, acesso em: 19 fev. 2019.

⁵⁹ GROVE, Kevin L. *et al*, Development of metabolic systems, **Physiology & Behavior**, v. 86, n. 5, p. 646–660, 2005.

⁶⁰ KING, Janet C., Maternal Obesity, Metabolism, and Pregnancy Outcomes, **Annual Review of Nutrition**, v. 26, n. 1, p. 271–291, 2006.

⁶¹ WATERLAND; GARZA, Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease.

⁶² BATESON, Patrick *et al*, Developmental plasticity and human health, **Nature**, v. 430, n. 6998, p. 419–421, 2004.

⁶³ THOLE, A. A. *et al*, Progenitor cells and TNF-alpha involvement during morphological changes in pancreatic islets of obese mice, **Tissue and Cell**, v. 44, n. 4, p. 238–248, 2012.

⁶⁴ KASPER, Philipp *et al*, Renal Metabolic Programming Is Linked to the Dynamic Regulation of a Leptin-Klf15 Axis and Akt/AMPK α Signaling in Male Offspring of Obese Dams, **Endocrinology**, v. 158, n. 10, p. 3399–3415, 2017.

ocorrem durante o período gestacional e lactação⁶⁵. O principal mecanismo pelo qual alterações ambientais interferem na expressão gênica é conhecido com epigenética.

A epigenética é definida como um conjunto de mecanismos moleculares herdáveis, o qual têm a capacidade de modular a expressão gênica a nível transcricional sem quaisquer alterações na sequência de pares de bases do Ácido Desoxirribonucleico (DNA). Desta maneira, a modulação gênica pode ser realizada pelas células, permitindo que um mesmo código genético expresse diferentes fenótipos. A regulação do epigenoma está envolvida no silenciamento de elementos transponíveis e na expressão gênica tecido-específica⁶⁶. Dentre os mecanismos epigenéticos, tem-se a metilação de DNA, *imprinting* genômico, silenciamento mediado por Ácido Ribonucleico (RNA) e mudanças na conformação da cromatina⁶⁷.

2.5.1. Metilação do DNA

A metilação do DNA é uma modificação química determinada por adição de um grupo metil no quinto carbono do anel de citosina, catalisada pelas enzimas DNA Metiltransferases (DNMT's), levando assim à formação de 5-metilcitosina. Este processo atua na inativação do cromossomo X, no *imprinting* genômico, no desenvolvimento embrionário, na regulação genética e causa modificações da cromatina. As chamadas ilhas CpG (citosina-fosfato-guanina) são as regiões do genoma onde ocorrem a maior parte das metilações do DNA. Essas regiões são ricas em dinucleotídeos CG (Citosina e Guanina)^{68,69}.

⁶⁵ XAVIER, J. L. P. *et al*, METABOLIC IMPRINTING: CAUSES AND CONSEQUENCES, **Visão Acadêmica**, v. 16, n. 4, 2016.

⁶⁶ DE BRITO OLIVEIRA COSTA, Everton; PACHECO, Cristiane, Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações, **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 125, 2013.

⁶⁷ ⁶⁷MOSS, Timothy J.; WALLRATH, Lori L., Connections between epigenetic gene silencing and human disease, **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 618, n. 1, p. 163–174, 2007.

⁶⁸ GOLL, Mary Grace; BESTOR, Timothy H., Eukaryotic cytosine methyltransferases, **Annual Review of Biochemistry**, v. 74, p. 481–514, 2005.

⁶⁹ OKANO, M.; XIE, S.; LI, E., Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases, **Nature Genetics**, v. 19, n. 3, p. 219–220, 1998.

Existem dois mecanismos que determinam o padrão de metilação, chamados metilação de manutenção e metilação *de novo*. A Dnmt1 é responsável pela metilação de manutenção dos padrões de metilação no período de mitose, enquanto as Dnmt3a e Dnmt3b são importantes nos estágios de desenvolvimento embrionário e estão encarregadas da metilação *de novo* das moléculas de DNA recém-sintetizadas (Figura 2)⁷⁰.

Outro processo importante é a desmetilação do DNA, onde ocorre a transformação da 5-metilcitosina em 5-hidroximetilcitosina através de diversas reações enzimáticas. O aumento da transcrição pode ser resultado da presença de 5-hidroximetilcitosina em regiões promotoras, indicando assim um papel na regulação da expressão gênica. Este processo é mediado por enzimas desmetilases Tets (enzima dez-onze translocase de DNA)⁷¹.

⁷⁰ TUREK-PLEWA, Justyna; JAGODZIŃSKI, Paweł P., The role of mammalian DNA methyltransferases in the regulation of gene expression, **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 10, n. 4, p. 631–647, 2005.

⁷¹ JANKE RYAN, *et al*, **Metabolism and Epigenetics**, disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-cellbio-100814-125544>>, acesso em: 8 jan. 2019.

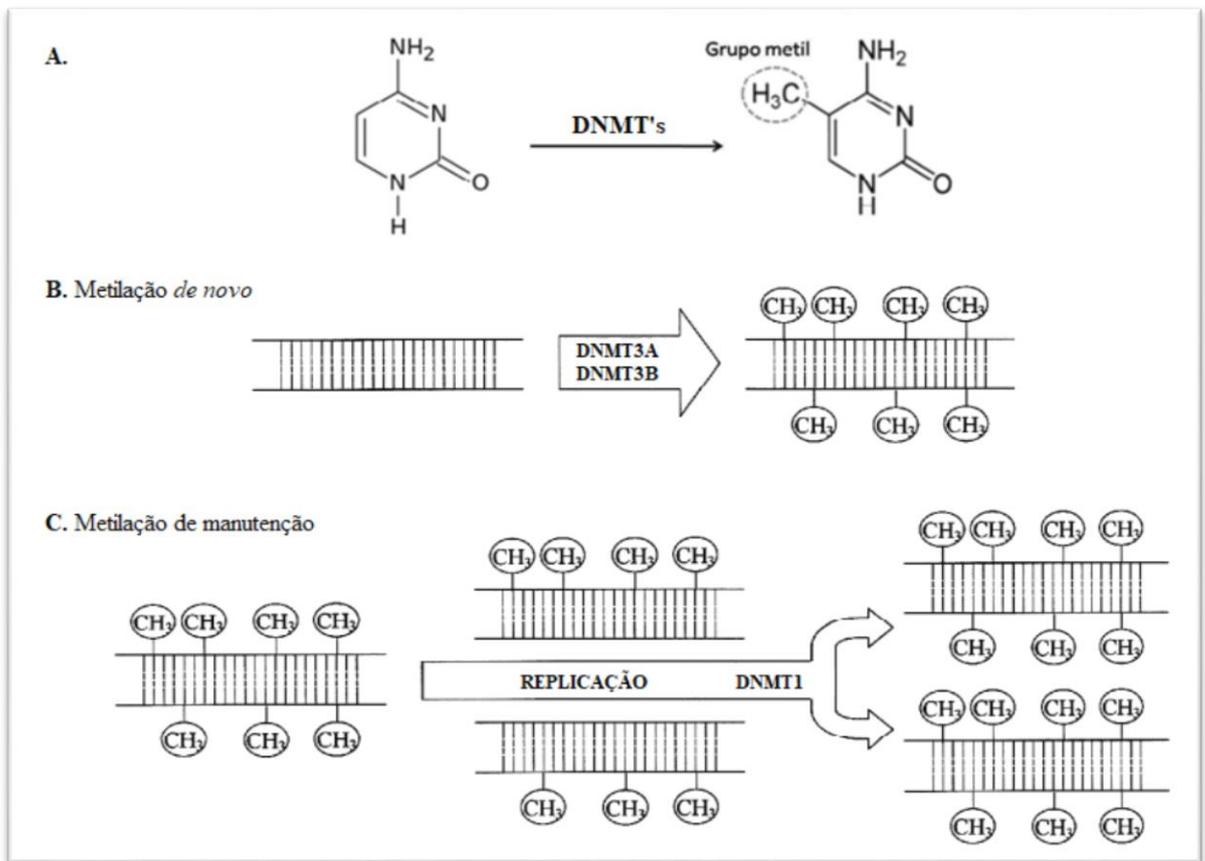


FIGURA 2: Metilação do DNA. (A) Metilação da estrutura de citosina a partir da adição de um grupo metil no quinto carbono do anel de citosina, catalisada pelas enzimas Dnmt's, (B) DNA sendo metilado pelo mecanismo denominado Metilação *de novo*, (C) DNA sendo metilado pelo mecanismo denominado Metilação de manutenção. Fonte The role of mammalian DNA methyltransferases in the regulation of gene expression (adaptada)⁷²

2.5.2. Modificações da histona

As histonas são proteínas que auxiliam na compactação do DNA e estão presentes nos nucleossomas. O nucleossoma está localizado no núcleo das células e é composto por quatro histonas, que formam um octâmero, são elas: H2A, H2B, H3 e H4. Para controlar o processo de transcrição gênica, a cromatina deve ser remodelada, alterando o acesso a fatores da transcrição ao DNA. Eventos tais como a metilação, acetilação, ubiquitinação e fosforilação, normalmente ocorrem na cauda das histonas que se desdobram a partir do

⁷² TUREK-PLEWA; JAGODZIŃSKI, **The role of mammalian DNA methyltransferases in the regulation of gene expression.**

centro dos nucleossomas. A acetilação é considerada a principal modificação epigenética. A acetilação dos resíduos de lisina das histonas neutraliza a carga positiva, interrompendo assim a ligação eletrostática entre as histonas e o DNA, desfrouxando a compactação da cromatina, deixando-a mais permissiva à transcrição gênica⁷³. Acredita-se que a acetilação das caudas N-terminais das histonas H3 e H4 seja um sinal para a ativação da cromatina, permitindo assim a acessibilidade a maquinaria de transcrição, esse sinal pode ser removido pelas Desacetilases de Histonas (HDAC's), que promovem a condensação da cromatina.

2.6. Sirtuínas no tecido renal

As sirtuínas são proteínas desacetilases dependentes de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina (NAD⁺) envolvidas na regulação do metabolismo e das respostas ao estresse^{74,75}. Em mamíferos, as sirtuínas possuem sete isoformas, (*Sirt1 a Sirt7*)⁷⁶. Outra característica dessa família de proteínas está relacionada à sua localização nos diferentes compartimentos celulares (Tabela 1), desta forma existem Sirtuínas específicas no núcleo (*Sirt1, Sirt6 e Sirt7*), citosol (*Sirt1 e Sirt2*), e em mitocôndrias (*Sirt3, Sirt4 e Sirt5*).⁷⁷ Crescentes evidências sugerem que as sirtuínas possuem efeitos protetores contra o desenvolvimento de doenças renais⁷⁸.

⁷³ ⁷³JANKE RYAN, *et al*, **Metabolism and Epigenetics**.

⁷⁴ ⁷⁴GERTZ, Melanie *et al*, A Molecular Mechanism for Direct Sirtuin Activation by Resveratrol, **PLOS ONE**, v. 7, n. 11, p. e49761, 2012.

⁷⁵ ⁷⁵POTTHAST, Arne Björn *et al*, Alterations of sirtuins in mitochondrial cytochrome c-oxidase deficiency, **PLOS ONE**, v. 12, n. 10, p. e0186517, 2017.

⁷⁶ ⁷⁶SAUVE, Anthony A. *et al*, The Biochemistry of Sirtuins, **Annual Review of Biochemistry**, v. 75, n. 1, p. 435–465, 2006.

⁷⁷ ⁷⁷MICHISHITA, Eriko *et al*, Evolutionarily Conserved and Nonconserved Cellular Localizations and Functions of Human SIRT Proteins, **Molecular Biology of the Cell**, v. 16, n. 10, p. 4623–4635, 2005.

⁷⁸ ⁷⁸WAKINO, Shu; HASEGAWA, Kazuhiro; ITOH, Hiroshi, Sirtuin and metabolic kidney disease, **Kidney International**, v. 88, n. 4, p. 691–698, 2015.

Tabela 1: Principais características das sirtuínas.⁷⁹

Sirtuína	Atividade	Localização	Função
<i>Sirt1</i>	Desacetilase	Núcleo / Citoplasma	Metabolismo/Inflamação/ Neurodegeneração
<i>Sirt2</i>	Desacetilase	Citoplasma	Ciclo celular
<i>Sirt3</i>	Desacetilase	Núcleo / Mitocôndria (matriz)	Metabolismo: produção de ATP/ Termogênese
<i>Sirt4</i>	ADP-ribosil transferase	Mitocôndria (matriz)	Metabolismo: secreção de Insulina
<i>Sirt5</i>	Desacetilase	Mitocôndria (matriz)	Ciclo da Ureia
<i>Sirt6</i>	ADP-ribosil transferase	Núcleo (heterocromatina)	Reparo DNA
<i>Sirt7</i>	Desacetilase	Núcleo (nucléolo)	Transcrição DNAr

A *Sirt1* medeia a regulação da longevidade, da resposta ao estresse agudo, da homeostase metabólica, da integridade do DNA e participa de vias importantes de sinalização⁸⁰. Em relação ao tecido renal, *Sirt1* reduz a pressão arterial e a albuminúria diabética, retarda a fibrogênese renal, resiste a lesão renal aguda e diminui o envelhecimento renal. Em animais obesos, o aumento da atividade de *Sirt1*, melhora os parâmetros metabólicos tais como a resistência à insulina e níveis de glicose no sangue em jejum⁸¹.

Evidências sugerem que *Sirt3* possua um papel importante no tecido renal. É provável a correlação do treinamento físico com a defesa antioxidante nos compartimentos dos túbulos proximal e distal e a manutenção da homeostase da energia

⁷⁹ ⁷⁹DONMEZ, Gizem; OUTEIRO, Tiago F, SIRT1 and SIRT2: emerging targets in neurodegeneration, **EMBO Molecular Medicine**, v. 5, n. 3, p. 344–352, 2013.

⁸⁰ GENARO, Patrícia de Souza; SARKIS, Karin Sedó; MARTINI, Ligia Araújo, Effect of caloric restriction on longevity, **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 667–672, 2009.

⁸¹ ⁸¹GUAN, Yi; HAO, Chuan-Ming, SIRT1 and Kidney Function, **Kidney Diseases**, v. 1, n. 4, p. 258–265, 2016.

mitocondrial. Dependendo da necessidade de energia específica do rim, as mitocôndrias são capazes de modificar em número, tamanho e localização⁸².

Dados recentes mostraram que *Sirt6* contribui para o controle da homeostase renal. *Sirt6* é uma enzima chave na manutenção da permeabilidade seletiva glomerular e de proteínas plasmáticas. A deficiência de *Sirt6* em camundongos foi associada a hipertrofia renal e lesão glomerular, resultando em proteinúria⁸³.

Pesquisas relatam que *Sirt7* desacetila alguns moduladores de genes mitocondriais codificados nuclearmente envolvidos no metabolismo lipídico⁸⁴. Foi demonstrado também que *Sirt7* restaura o pH no ducto coletor durante a acidose metabólica através de sua capacidade de desacetilar o cotransportador KCC4 expresso na membrana basolateral de células α -intercaladas onde modula o equilíbrio do pH⁸⁵.

Embora não se conheça ao certo o papel das sirtuínas 2, 4 e 5 na função renal, estudos revelam que *Sirt2* participa na regulação do metabolismo da glicose e lipídios, e pode ser considerada um sensor de glicose que mantém a sensibilidade à insulina. Além disso, inibe a adipogênese e ou promove a gliconeogênese por meio de sua atividade desacetilase⁸⁶. Em um outro estudo publicado em 2017, mostra que *Sirt4* possui uma função importante na homeostase da glicose e da secreção de insulina, pois ratos deficientes de *Sirt4* desenvolveram resistência à insulina e intolerância à glicose⁸⁷. Uma pesquisa publicada em 2006, mostra que a perda de *Sirt4* aumenta a secreção de insulina estimulada por aminoácidos. Um efeito parecido foi observado em células beta pancreáticas de animais em regime de restrição calórica ou deficientes de *Sirt4*. Posteriormente, estudos demonstraram que *Sirt5* controla a cetogênese através de atividades de desaminolase e desuccinilase no tecido hepático, e possui um efeito no fluxo

⁸² ⁸²*Ibid.*

⁸³ HUANG, Wen *et al*, *Sirt6* deficiency results in progression of glomerular injury in the kidney, **Ageing**, v. 9, n. 3, p. 1069–1083, 2017.

⁸⁴ ⁸⁴YOSHIZAWA, Tatsuya *et al*, SIRT7 controls hepatic lipid metabolism by regulating the ubiquitin-proteasome pathway, **Cell Metabolism**, v. 19, n. 4, p. 712–721, 2014.

⁸⁵ ⁸⁵MERCADO, Adriana *et al*, The K⁺:Cl⁻ Cotransporter KCC4 is Activated by Deacetylation Induced by the Sirtuin7 (SIRT7), **The FASEB Journal**, v. 29, n. 1_supplement, p. 666.24, 2015.

⁸⁶ ⁸⁶YE, Xin *et al*, Sirtuins in glucose and lipid metabolism, **Oncotarget**, v. 8, n. 1, p. 1845–1859, 2016.

⁸⁷ ⁸⁷ANDERSON, Kristin A. *et al*, SIRT4 Is a Lysine Deacylase that Controls Leucine Metabolism and Insulin Secretion, **Cell Metabolism**, v. 25, n. 4, p. 838-855.e15, 2017.

energético via glicólise.⁸⁸ *Sirt5* foi descrita inicialmente como uma desacetilase mitocondrial que através da ativação da carbamoil fosfato sintetase regula o ciclo da ureia no tecido hepático.⁸⁹

A seguir, a figura 3 ilustra a atividade funcional e a contribuição das Sirtuínas 1,3,6 para manter a homeostase renal

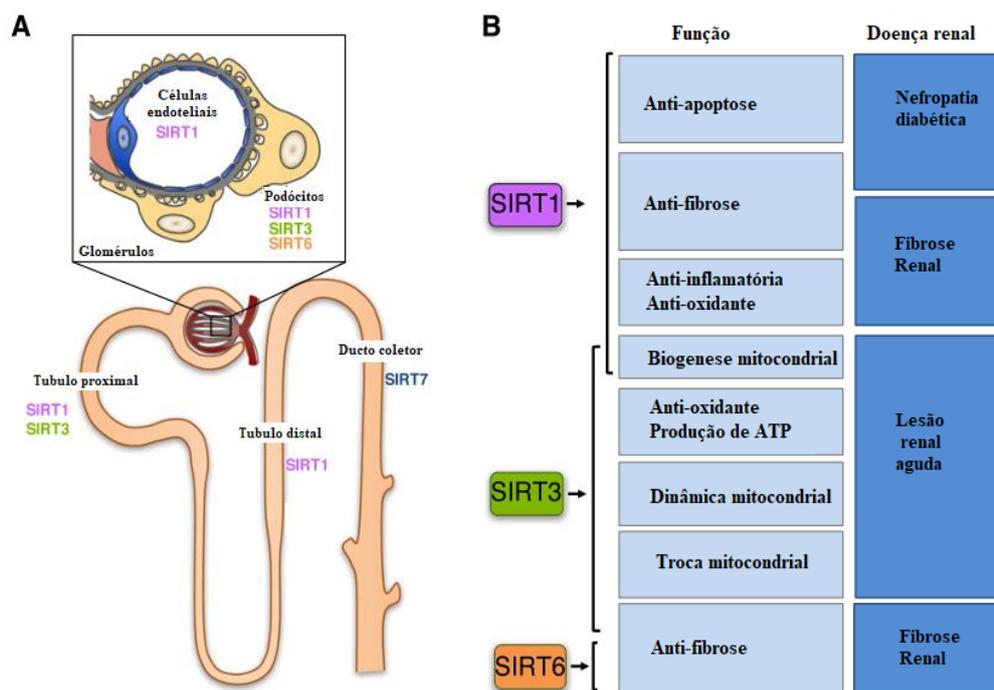


FIGURA 3: As sirtuínas contribuem para manter a homeostase renal e sua regulação negativa leva a doenças renais crônicas e agudas. (A) As sirtuínas são expressas em diferentes compartimentos renais. No glomérulo, *Sirt1*, *Sirt3* e *Sirt6* mantêm a integridade estrutural e funcional dos podócitos. Nas proximidades dos podócitos, as células endoteliais glomerulares expressam *Sirt1*. *Sirt1* também é expressa e participa do controle do equilíbrio de sódio e da reabsorção de água, regulando a subunidade do sódio epitelial no tubulo distal. *Sirt1* e *Sirt3* são altamente expressos no túbulo proximal, onde preservam a integridade funcional mitocondrial. No ducto colector, *Sirt7* controla o manuseio de eletrólitos ácido-base. (B) *Sirt1*, *Sirt3* e *Sirt6* exercem funções de proteção, modulando vários alvos renais (azul claro). A downregulation de *Sirt1*, *Sirt3* e *Sirt6* favorece o desenvolvimento de distúrbios renais (azul). Fonte: Sirtuins in Renal Health and Disease (adaptada)⁹⁰

⁸⁸ ⁸⁸NISHIDA, Yuya *et al*, SIRT5 Regulates both Cytosolic and Mitochondrial Protein Malonylation with Glycolysis as a Major Target, *Molecular Cell*, v. 59, n. 2, p. 321–332, 2015.

⁸⁹ ⁸⁹SIRT5 Deacetylates carbamoyl phosphate synthetase 1 and regulates the urea cycle. - PubMed - NCBI, disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19410549>>, acesso em: 7 fev. 2019.

⁹⁰ {Citation}

3. JUSTIFICATIVA

Desde 2008, nosso Laboratório vem estudando os efeitos de uma dieta rica em carboidratos simples sobre o tecido adiposo de ratos recém-desmamados, focando em duas variáveis: o treinamento físico em esteira rolante, a fim de se avaliar o comportamento da adiposidade corporal mediante um fator predisponente ao gasto energético, e o tempo, para investigar as alterações sobre o balanço energético num animal “púbere” (4 semanas) e num “adulto jovem” (8 semanas). Inicialmente, avaliamos os efeitos a longo prazo da dieta e do exercício físico sobre os níveis de (Uncoupling Protein 1) UCP1 e (Uncoupling Protein 3) UCP3, bem como a eficiência do balanço energético. Os resultados mostraram que os animais que foram alimentados com a dieta rica em carboidratos simples exibiu um maior índice de adiposidade e de peso de Tecido Adiposo Marrom inter-escapular (TAM), acompanhado de um aumento de expressão de UCP1 tanto ao nível transcricional como proteico. O treinamento induziu um aumento de expressão dos receptores β_3 no TAM e redução nos níveis de transcrição de UCP3 no músculo. Além disso, o treinamento bloqueou a expressão de UCP1 no TAM e aumentou a expressão de UCP3 no músculo, sugerindo que o exercício físico melhora a relação UCP1/UCP3 e conseqüentemente o balanço energético. Também foi observado que o exercício induz diminuição nos níveis de leptina no soro e um aumento na expressão do seu receptor no tecido adiposo retroperitoneal, entretanto em ratos alimentados com dieta rica em carboidratos foi observado um aumento na expressão do Receptor de Leptina (OB-Rb) e redução nos níveis de catecolaminas o que resultou em altos níveis de adiposidade e hiperleptinemia. A combinação de exercício físico com dieta rica em carboidratos simples diminuiu os níveis de Ácidos Graxos não esterificados (NEFAs) e induz um aumento na expressão de UCP2, nos animais com 4 semanas, sendo que esse efeito não é observado nos animais com 8 semanas de consumo da dieta rica em carboidratos.

Embora o mecanismo específico não tenha sido completamente elucidado, nós demonstramos que a ingestão de dieta rica em carboidratos simples pós-desmame induz hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos após 12 semanas de ingestão, induzindo mudanças no padrão de expressão de genes que atuam em redes de interação relacionadas à

diferenciação celular e no metabolismo dos adipócitos, ou seja, *upregulation* dos sinais adipogênicos (PPAR γ) e *downregulation* dos sinais anti-adipogênicos (componentes da sinalização Wnt). Apesar dos níveis de glicose permanecerem inalterados, após 8 semanas de consumo da dieta rica em carboidratos simples observou-se intolerância à glicose e alteração do índice HOMA, associado ao aumento dos adipócitos, bem como dos níveis de leptina. Entretanto, 12 semanas de consumo da dieta rica em carboidratos iniciadas após o desmame provocou hiperplasia do tecido adiposo retroperitoneal, o que pode ser um fator importante para o restabelecimento dos parâmetros glicometabólicos neste período. A dieta rica em carboidratos simples modula a expressão de miRNAs anti-adipogênicos e associados às condições metabólicas, poderiam reverter o efeito temporal observado na expressão de um conjunto de genes no tecido adiposo branco^{91,92}. Continuando essa linha de investigação, a hipótese deste trabalho é avaliar os efeitos da dieta rica em carboidratos simples e do treinamento aeróbico de natação sob a reprogramação epigenética no tecido renal.

⁹¹ SANTOS, Talita, Epigenética no tecido adiposo retroperitoneal de ratos: foco em metilação de DNA e expressão de sirtuínas, 2018.

⁹² KB QUEIROZ, Associação entre Dieta Hiperglicídica e Exercício. Físico Modifica o Metabolismo e a Expressão Gênica no Tecido Adiposo, 2010.

4. OBJETIVOS

4.1. *Objetivo Geral*

Avaliar alterações epigenéticas para disfunção renal induzida por dieta rica em carboidratos simples associado ao sedentarismo em ratos Wistar.

4.2. *Objetivos Específicos*

- Avaliar possíveis alterações biométricas, hematológicas e bioquímicas em ratos submetidos ao treino aeróbico e dieta rica em carboidratos simples em um período de 18 semanas
- Avaliar a função renal e possíveis alterações histológicas no rim dos animais em estudo
- Avaliar a expressão de Sirtuínas (1-7) em tecido renal
- Avaliar e comparar a expressão e a atividade das enzimas antioxidantes Superóxido-Dismutase (SOD) e Catalase (*Cat*) em tecido renal
- Avaliar e comparar a expressão mRNA de metilases e desmetilases no tecido renal.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Desenho Experimental

Foram utilizados 40 animais, *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, machos recém-desmamados (massa corporal entre 40 – 65g), com aproximadamente 35 dias de vida, provenientes do Centro de Ciência Animal (CCA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos como descrito nas normas do Manual de Princípios Orientadores do Comitê de Ética e autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Ouro Preto, sob o protocolo nº 2016/26. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas, não excedendo cinco animais por gaiola, sob condições de luz (12/12h) e temperatura (24 ± 2 °C) controladas. Os animais foram divididos em quatro grupos: 1) Grupo Sedentário Dieta Controle (SDC, N=10); 2) Grupo Treinado Dieta Controle (TDC, N=10); 3) Grupo Sedentário Dieta Rica em Carboidratos simples (SDRC, N=10) e 4) Grupo Treinado Dieta Rica em Carboidratos simples (TDRC, N=10).

Os grupos 1 e 2 foram alimentados com ração comercial para ratos (Nuvilab CR-1, Colombo, Brasil) e os grupos 3 e 4 foram alimentados com uma ração rica em carboidratos simples, porém isocalórica composta por 40,45% de ração comercial (Nuvilab CR1, Colombo, Brasil), 8,58% de açúcar, 40,45% de leite condensado e 10,52% de água (Tabela 1).

Tabela 2: Composição Nutricional das rações.

Composição Nutricional	Unidade	Dieta Controle (Nuvilab CR-1)	Dieta Rica em Carboidratos Simples
Calorias	Kcal/100 g	308,52	267,54
Carboidratos	g/100g	44,08	51,63
Cinzas	g/100g	6,87	3,63
Fibra bruta	g/100g	11,43	5,08
Gordura Total	g/100g	5,06	1,09
Proteína	g/100g	21,67	12,81
Umidade	g/100g	10,89	25,77

Os cálculos nutricionais foram baseados em análises bromatológicas de ambas as rações. Ração para ratos (Nuvilab CR-1, Colombo, Brasil) e ração rica em carboidratos simples.

5.1.2. Treinamento aeróbico de natação com carga de trabalho

Durante 5 dias da semana, ao longo de 18 semanas, os animais foram treinados em piscina coletiva profunda do CCA da UFOP, sob temperatura controlada (28 ± 2 °C). O treinamento de natação iniciou com um período de adaptação (Tabela 3) em baldes individuais. A primeira sessão durou 15 minutos, a segunda 30 minutos e a terceira 45 minutos. Na quarta sessão os animais já treinavam 60 minutos por dia. A partir de então, os animais foram submetidos ao treinamento de natação com cargas confeccionadas com fio de solda anexadas às suas caudas. O treino iniciou-se com carga equivalente a 0,5% da massa corporal do animal, sendo aumentada semanalmente até atingir 3% (Tabela 4). Para evitar a diminuição da temperatura corporal, após cada sessão de natação, os ratos foram secados individualmente.

Tabela 3: Protocolo de adaptação do treinamento aeróbico de natação (sem carga)

1ª Semana – Adaptação	
Dia da semana	Tempo
Segunda-feira	15 minutos
Terça-feira	30 minutos
Quarta-feira	45 minutos
Quinta-feira	60 minutos
Sexta-feira	60 minutos

Tabela 4: Protocolo de treinamento aeróbico de natação com sobrecarga de peso durante 18 semanas.

Grupo (TDC e TCRC)		
Acréscimo de carga (% em relação à massa corporal)		
Semana	Tempo por sessão	Carga
1ª (adaptação)	Crescente 15 min – 60 min	0%
2ª	60 min	0,5%
3ª	60 min	1%
4ª	60 min	1,5%
5ª	60 min	2%
6ª	60 min	2,5%
7ª	60 min	3%
8ª	60 min	3%
9ª	60 min	3%
10ª	60 min	3%

Grupo (TDC e TCRC)		
Acréscimo de carga (% em relação à massa corporal)		
Semana	Tempo por sessão	Carga
11 ^a	60 min	3%
12 ^a	60 min	3%
13 ^a	60 min	3%
14 ^a	60 min	3%
15 ^a	60 min	3%
16 ^a	60 min	3%
17 ^a	60 min	3%
18 ^a	60 min	3%

TDC - treinado dieta controle, TCRC - treinado dieta rica em carboidratos simples

5.2. Determinação do ganho de massa corporal e do consumo alimentar

Os animais foram pesados individualmente uma vez por semana e o ganho de massa foi calculado subtraindo-se a massa corporal final da inicial⁹³.

O consumo alimentar dos animais foi medido durante todo o período experimental. E a ingestão calórica calculada multiplicando-se o consumo alimentar pela densidade energética da dieta de cada grupo, sendo o valor adotado para a dieta controle 3,08 kcal/g e para a dieta rica em carboidratos simples 2,67 kcal/g⁹⁴.

⁹³ PERERA, Thanusha *et al*, Effect of fluoride on major organs with the different time of exposure in rats, **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 23, n. 1, p. 17, 2018.

⁹⁴ **Physical activity prevents alterations in mitochondrial ultrastructure and glucometabolic parameters in a high-sugar diet model**, disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0172103>>, acesso em: 3 jan. 2019.

5.3. Índice de Lee e Índice de adiposidade

Para avaliar a indução da obesidade pela dieta rica em carboidratos simples, foram analisados parâmetros biométricos. O índice de Lee (IL) foi calculado como o descrito por Lee em 1928^{95,96}.

$$IL = \sqrt[3]{\frac{\text{peso corporal (g)}}{\text{comprimento naso - anal (cm)}}} \times 1000$$

O Índice de Adiposidade (IA) foi utilizado como indicador de obesidade, pois permite a avaliação das porcentagens de gordura corporal. Para obter o índice de adiposidade, foi calculada a partir da soma dos depósitos de gordura, normalizada pelo peso corporal⁹⁷.

$$IA = \frac{\text{epididimal (g)} + \text{retroperitoneal (g)} + \text{inguinal (g)}}{\text{peso corporal (g)}} \times 100$$

5.4. Parâmetros bioquímicos e hematológicos

Ao final de 18 semanas de treinamento aeróbico de natação, os animais foram eutanasiados por decapitação e as amostras de sangue foram colhidas e distribuídas em tubo seco e microtubos contendo anticoagulante EDTA sódico (10%) para realização dos parâmetros bioquímicos e hematológicos, respectivamente. Após a coagulação do sangue em tubos seco, as amostras foram centrifugadas a 2044 *xg*, durante 10 minutos para a separação do soro.

⁹⁵ FOLCH, Jordi; LEES, M.; STANLEY, G. H. Sloane, A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues, **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

⁹⁶ ⁹⁶BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D., Correlation between “Lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions, **The Journal of Endocrinology**, v. 40, n. 4, p. 527–528, 1968.

⁹⁷ ⁹⁷LUVIZOTTO, Renata de Azevedo Melo *et al*, Lycopene supplementation modulates plasma concentrations and epididymal adipose tissue mRNA of leptin, resistin and IL-6 in diet-induced obese rats, **The British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 10, p. 1803–1809, 2013.

5.4.1. Análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos

Os parâmetros hematológicos foram analisados através de um analisador semi-automatizado (*Sysmex*®-KX 21) e as lâminas avaliadas através de microscopia óptica. As dosagens bioquímicas foram realizadas nas amostras de soro com kits (Bioclin, Minas Gerais, Brasil), já as análises urinárias foram realizadas com kit comercial da Labtest (Lagoa Santa, MG - Brasil) através de um analisador automatizado (Wiener Lab, CM 200, São Paulo - Brasil), pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto. Foram dosados os níveis séricos de uréia, creatinina, Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST), colesterol total, HDL, triglicérides e glicose. E na urina foram dosados a proteinúria, creatinúria e calculado a Taxa de Filtração Glomerular (TFG), para avaliar a função renal. TFG foi estimado utilizando a equação abaixo⁹⁸:

$$\text{TFG (ml. 24h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Creatinúria} \times \text{Fluxo urinário}}{\text{Creatinina sérica}}$$

5.5. Dosagem de Insulina

Para avaliação dos níveis de insulina foi utilizado um método de imunoenensaio do tipo ELISA sanduíche em que ocorre a captura da insulina presente no soro por anticorpos monoclonais de insulina de rato. Para isto foi utilizado o Kit Rat /Mouse Insulin (Millipore, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Em espectrofotometro, foi lida a absorbância em comprimento de onda 450 nm, para calcular a concentração de insulina, foi realizada uma curva padrão de função logarítmica com quatro parâmetros nas concentrações de (0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 ng/mL).

⁹⁸ RIBEIRO, A.P.A.F., Adaptações renais induzidas pelo treinamento aeróbico em ratos normais em repouso e sob o efeito de exercícios, 2009.

5.6. Teste de Tolerância Oral a Glicose (TTOG)

O Teste de Tolerância Oral a Glicose foi realizado após os ratos ficarem 12 horas em jejum. As amostras de sangue foram colhidas da cauda animal e os níveis de glicose foram monitorados nos tempos 0, 30, 60 e 120 minutos, após a gavagem com dextrose a 40%. Para a dosagem da glicemia foi utilizado um glicosímetro Accu-Check (Accu-Chek Active, Roche Diagnostics Corp, Hague Road, IN). O índice de resistência à insulina foi calculado usando a fórmula de HOMA⁹⁹:

$$HOMA = \frac{\text{insulina sérica em jejum} \times \text{glicose plasmática}}{22,5}$$

5.7. Extração de lipídeos

O conteúdo lipídico do tecido renal foi extraído de acordo com o método de Folch.¹⁰⁰ Cerca de 100 mg de tecido foram homogeneizados com 1266 µL de clorofórmio em um homogeneizador do tipo *polytron* e, em seguida foram adicionados 0,660 µL de uma solução de clorofórmio-metanol (2:1). O conteúdo foi transferido para um tubo de vidro e homogeneizado com vórtex por 3 minutos. Foram adicionados 400 µL de metanol e esse material foi incubado por 30 minutos à temperatura ambiente, depois, foi centrifugado por 10 minutos à 3370 *xg*. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de vidro previamente pesado e foram adicionados 800 µL de clorofórmio e 640 µL de NaCl a 0,73%. O conteúdo foi homogeneizado em vórtex por 1 minuto e centrifugado por 10 minutos a 3370 *xg*. O sobrenadante foi descartado e o tubo foi lavado por 3 vezes com 600 µL de solução de Folch [clorofórmio-metanol-água (3:48:47)]. O sobrenadante foi descartado e os vestígios de solvente foram secos em estufa semiaberta, a 40°C, até completa evaporação. O tubo foi novamente pesado e os lipídeos foram ressuspensos em 500 µL de isopropanol. A quantidade de lipídios extraída foi calculada, utilizando-se a seguinte fórmula:

⁹⁹ ⁹⁹MATTHEWS, D. R. *et al*, Homeostasis model assessment: insulin resistance and β-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man, **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, 1985.

¹⁰⁰ ¹⁰⁰FOLCH; LEES; STANLEY, A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues.

$$\% \text{ lipídios} = \frac{\text{massa de lipídios (g)}}{\text{massa da amostra (g)}} \times 100$$

A variedade lipídica foi determinada no tecido renal através das dosagens de colesterol total e triglicerídeos utilizando os kits comerciais (Bioclin, Minas Gerais, Brasil), conforme instruções do fabricante.

5.8. *Lactato*

Para analisar os níveis de lactato presente no plasma, realizou-se a coleta de sangue periférico da veia caudal de todos os animais, em tubos contendo conservante fluoreto de sódio e oxalato de potássio (5%), que foi centrifugado 8.000 *xg* por 5 minutos. Posteriormente dosou-se o lactato pelo kit comercial (Bioclin, Minas Gerais, Brasil), por espectrofotometria, conforme instruções do fabricante. A coleta sanguínea foi realizada em dois momentos, sendo a primeira enquanto os animais ainda se encontravam em repouso (pré-treino) e a segunda, após 60 minutos de natação com carga (pós-treino) equivalente a 3% da massa corporal do animal.

5.9. *Análises histológicas*

Os tecidos renais foram fixado em solução de 80% metanol e 20% DMSO, em seguida foram armazenados a -20 °C até serem submetidos a técnicas de histologia. Os cortes histológicos (4µm de espessura) foram corados com tricromo de Masson e foi realizada a morfometria para a avaliação da fibrose renal. A área do tecido de colágeno (cor azul) foi medida quantitativamente usando o software ImageJ¹⁰¹, e para estimar quantos campos seriam analisados por lamina, foi realizado o teste de estabilidade¹⁰² para determinar o número médio de glomérulos a serem analisados. A seguir foram obtidas 30 imagens com a objetiva de 40x do microscópio Leica DM5000B através da microcâmara

¹⁰¹ ¹⁰¹PONNUSAMY, Murugavel *et al*, Blocking Sirtuin 1 and 2 Inhibits Renal Interstitial Fibroblast Activation and Attenuates Renal Interstitial Fibrosis in Obstructive Nephropathy, **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 350, n. 2, p. 243–256, 2014.

¹⁰² ¹⁰²NOGUEIRA-PAIVA, Nívia Carolina *et al*, Myenteric plexus is differentially affected by infection with distinct *Trypanosoma cruzi* strains in Beagle dogs, **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 1, p. 51–60, 2014.

acoplada (Leica DFC340FX) concedidos pelo Laboratório Multiusuário de Microscopia do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto. A medida da área de colágeno total e diferencial foi realizada com auxílio do software ImageJ (1.38).

5.10. Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

Para dosar a atividade da enzima Superóxido Dismutase, foi utilizado o kit (Superoxide Dismutase (SOD) Colorimetric Activity – Invitrogen, São Paulo, Brasil). O kit é um ensaio de atividade colorimétrica que quantifica a atividade da superóxido dismutase no tecido, o ensaio foi realizado conforme as instruções do kit e a placa foi lida em um espectrofotometro em comprimento de onda 450 nm.

5.11. Extração de RNA total

Foram utilizados cerca de 100 mg de tecido renal para extrair RNA total. A purificação foi realizada através do kit (SV Total RNA Isolation System - Promega) de acordo com as instruções do fabricante com algumas alterações. O tecido foi homogeneizado com o auxílio de um homogeneizador rotativo do tipo *polytron*, para isso foi adicionado 1 ml de Trizol (Invitrogen, São Paulo, Brasil) à amostra e esta foi submetida a 5 pulsos de 1 minuto cada no *polytron*, seguidos de banho de gelo por um minuto. Depois o homogenato ficou incubado por 16 horas a temperatura de 4°C. Após esse período, o mesmo foi colocado em temperatura ambiente por 5 minutos e adicionado 400 µl de clorofórmio, essa mistura foi friccionada por 1 minuto em um agitador tipo vórtex, e centrifugadas a 12000 *xg* por 15 minutos a 4°C. Então, mais 400 µl de clorofórmio foram adicionados e as amostras foram novamente vortexadas e incubadas por 25 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, a centrifugação dos homogenatos foi repetida a 12000 *xg* por 15 minutos a 4°C. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo Eppendorf® e adicionados 600 µl etanol a 95% (Sigma ST. Louis, MO, USA) e homogeneizados manualmente por inversão. Em etapa conseguinte, o material foi

transferido para a coluna de retenção de ácidos nucleicos. Posteriormente, o RNA foi tratado com DNase (Turbo DNase - Invitrogen, São Paulo, Brasil) de acordo com as instruções do kit, e então o mesmo foi quantificado através de um espectrofotômetro compacto NanoDrop™ Lite Spectrophotometer® (ThermoFischer SCIENTIFIC). O grau de pureza também foi avaliado pela relação entre os comprimentos de onda 260/280. Foram aceitas para a síntese de cDNA razões acima de 1,8 e a qualidade do RNA total foi avaliada a partir da confecção de um gel a 1,2% de agarose.

5.11.1. Síntese de cDNA

O cDNA foi sintetizado utilizando 1 µg de RNA total conforme as instruções do kit High-Capacity cDNA RT-Applied. À reação foram adicionados 2 µL tampão RT 10x, 2 µL Random Primer 10x, 0,8 µL dNTP 25x e 1 µL da enzima Multiscribe Reverse Transcriptase e água livre de nucleasse até completar um volume final de 20 µL. A amostra foi então incubada por 10 minutos a 25°, 120 minutos a 37°C, posteriormente a enzima foi inativada à 85°C por 5 minutos. As amostras foram armazenadas em freezer a -80°C, por até cinco dias após a confecção do cDNA.

5.11.2. Seleção do controle endógeno

Para a escolha gene normalizador foi realizada uma análise quanto a variação da expressão gênica para quatro controles endógenos: *Rplp2*, *Hprt1*, *Gapdh* e *rRNA18S*. O gene que menos variou foi o *rRNA18S*, mas o mesmo tem expressão consideravelmente alta em relação aos alvos, por isso, o gene normalizador que apresentou mais adequado foi o *Hprt1*.

5.11.3. Análise da expressão gênica pela técnica de PCR em tempo real (qRT-PCR)

Para a análise da expressão de genes foi utilizada a técnica de PCR em tempo real, onde a amplificação foi realizada utilizando o kit Promega que contém a enzima Taq DNA polimerase, dNTPs e SYBR Green como corante intercalante. Para a reação foram adicionados 5 µL de SYBR, 3 µL de primer, 0,1 µL de CXR e 2 µL de cDNA (100µg). As amostras foram aplicadas na placa em triplicata, utilizando o *Hprt1* como gene normalizador. A quantificação gênica relativa foi determinada de forma automatizada no equipamento 7300 Real-Time PCR (Applied Biosystems), onde as reações foram submetidas às mesmas condições de análise. A expressão relativa foi calculada a partir do Δ CT associado ao gene normalizador (*Hprt1*) e os resultados foram analisados pelo método de *fold change*. Os primers utilizados estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Sequências dos primers Forward e Reverse utilizados para análise da expressão gênica

Gene	Sequência	Nº de acesso ao GenBank
<i>Hprt1</i>	Forward: GCA GAC TTT GCT TTC CTT GG Reverse: ATC CAA CAC TTC GAG AGG TCC	NM_012583.2
<i>Sirt1</i>	Forward: GGT TGC AGG AAT CCA AAG G Reverse: CCA CGA ACA GCT TCA CAA TC	XM_008772947.2
<i>Sirt2</i>	Forward: CAC GAT GAG CTG GAT GAA AG Reverse: CGG GCT TTA CCA CAT TCT G	XM_006228676.3
<i>Sirt3</i>	Forward: GGG TCC TTT GCT CTG AGT CC Reverse: TCC ACC AGC CTT TCC ACA C	XM_008759981.2
<i>Sirt4</i>	Forward: TTG ATT TCA TCC GCA GTG Reverse: CCC AAG TTT CTC CCA GTT	XR_595327.2
<i>Sirt5</i>	Forward: AAC GCA AAG CAC ATA GTC AT Reverse: AGC AAA GGC CAG AGG AGT	XM_006253802.2
<i>Sirt6</i>	Forward: GCC GTC TGG TCA TTG TCA Reverse: AGC CTT GGG TGC TAC TGG	XM_017594720.1
<i>Sirt7</i>	Forward: AGC ACG GCA GCC TCT ATC Reverse: AGG TCG GCA GCA CTC ACA	XM_017599391.1
<i>Dnmt1</i>	Forward: GAG CCC AGC CCA GAG TAT GC Reverse: ATG GCA GAA GGA GGA ACA G	NM_052254.3
<i>Dnmt3a</i>	Forward: CTG GCA AGG CTG TGG AGG TG Reverse: GGT GGG GGT GGG GCA TAA GC	XM_017594268.1
<i>Dnmt3b</i>	Forward: GCT GGT GGC TCT GGG TCT GT Reverse: AGG GCG GCT GGG GAA GGT CT	NM_001003959.1
<i>Tet2</i>	Forward: CCC AGG AAA GCA CAG ACA TAG Reverse: AGC ACC ATT AGG CAT TAG CAC	XM_227694.8
<i>Tet3</i>	Forward: TCA GCA ACA CCT TCA TCA CAA Reverse: TTT TCC TTG GGT GGT TTG TCA	XM_0006236793.3

<i>MnSOD</i>	Forward: TGT GTC TGT GGG AGT CCA AG Reverse: AGG CGG CAA TCT GTA AGC	NC_000006.12
<i>ZnSOD</i>	Forward: ATA CAC AAG GCT GTA CCA CTG C Reverse: CCT CTC TTC ATC CGC TGG AC	XM_002.445.626
<i>Cat</i>	Forward: ATT GCC GTC CGA TTC TCC Reverse: CCA GTT ACC ATC TTC AGT GTA G	NC_005102.4

5.12. *Análise estatística*

As análises dos dados foram realizadas utilizando o teste estatístico (two-way ANOVA, seguido do pós-teste Bonferroni) do software *GraphPad Prism*, versão 6.01 for Windows, (Inc., San Diego, CA, USA). Os resultados foram então apresentados como média \pm desvio padrão, considerando significativos valores de $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1. Avaliação do consumo alimentar e calórico dos animais

Os animais foram pesados semanalmente durante todo o período experimental, e o consumo alimentar e a ingestão calórica foram calculados. Foi possível observar que houve um aumento do consumo alimentar e uma redução da ingestão calórica pelos animais sedentários e treinados que consumiram a dieta rica em carboidratos simples. Contudo, apesar dos animais do grupo TDCS terem ingerido maior quantidade de alimentos em relação aos grupos SDC e TDC, em termos de calorias esse foi o grupo com menor ingestão calórica, seguido dos animais SDCS (Tabela 6). Isso sugere que existe um efeito da dieta na ingestão calórica dos animais, embora outro fator deva estar associado, já que os animais treinados que receberam a mesma dieta reduziram ainda mais a ingestão de calorias.

Tabela 6: Consumo alimentar (g) e Ingestão calórica (Kcal) no período de 18 semanas.

Grupo	Consumo alimentar (g)	Ingestão calórica (Kcal)
SDC	1373,24 ± 4,17	4229,43 ± 12,81
TDC	1404,2 ± 40,27	4324,95 ± 124,01
SDCS	1517,69 ± 53,23 ^{ab}	4052,63 ± 142,15 ^{ab}
TDCS	1428,7 ± 4,53 ^{abc}	3814,61 ± 12,13 ^{abc}

As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni) e os dados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC - sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDCS - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDCS - treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC, (c) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDCS

6.2. Análise dos parâmetros biométricos dos animais submetidos a ingestão da dieta rica em carboidratos simples e treinamento físico de natação com carga

A tabela 7 mostra o ganho de massa corporal dos animais submetidos a 18 semanas de ingestão da dieta isocalórica rica em carboidratos simples e treinamento físico de

natação com carga. Foi possível observar que o peso inicial dos animais era semelhante, mas o peso final foi maior no grupo SDRC quando comparado ao grupo TDRC. Quanto ao ganho de massa real (final – inicial), os grupos que consumiram a dieta rica em carboidratos simples apresentaram maior ganho de massa. Entretanto o treino de natação não foi capaz de reverter este quadro.

Tabela 7: Ganho de massa corporal dos animais submetidos a 18 semanas de ingestão da dieta rica em carboidratos simples e treinamento físico de natação com carga.

Grupo	Massa inicial (g)	Massa final (g)	Ganho de massa (g)
	Média ± SD	Média ± SD	Média ± SD
SDC	85 ± 8,83	415,0 ± 27,1	320,8571 ± 34,64
TDC	86,5 ± 8,67	387,1 ± 33,63	293,7 ± 39,28
SDCS	80,44 ± 13,44	510,78 ± 28,06 ^{ab}	422,33 ± 42,91 ^{ab}
TDCS	82,4 ± 13,89	456,2 ± 37,13 ^{bc}	373,8 ± 43,18 ^b

As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni) e os dados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC - sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC, (c) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDRC.

6.3. Índice de Lee, índice de adiposidade e peso em gramas dos órgãos e tecidos de animais de 18 semanas.

Para avaliar a influência da dieta e do treino aeróbico de natação com carga sob o grau de obesidade, foram calculados o índice de Lee e adiposidade. A tabela 8 mostra que a dieta rica em carboidratos simples induziu um aumento de depósitos de gordura epididimal, inguinal e retroperitoneal nos animais sedentários, mas que o treino aeróbico de natação foi capaz de reverter estes resultados. Observamos também que o treino e a dieta rica em carboidratos simples induziram um aumento de tecido adiposo marrom. Quanto ao índice de Lee e adiposidade podemos observar que a dieta rica em carboidratos induziu um aumento nestes dois parâmetros, mas que o treino aeróbico de natação com carga foi capaz de reverter estes resultados. Também foi observado um aumento do peso do fígado nos animais sedentários que receberam a dieta rica em carboidratos simples quando comparados com os animais treinados alimentados com dieta controle (Figura 8)

Tabela 8: Índice de Lee, índice de adiposidade e peso em gramas dos órgãos e tecidos de animais de 18 semanas.

Tecido	Grupos			
	SDC	TDC	SDRC	TDRC
Coração	1,430 ± 0,115	1,534 ± 0,138	1,533 ± 0,181	1,583 ± 0,240
Fígado	10,784 ± 1,821	9,885 ± 1,027	11,986 ± 1,335 ^b	11,426 ± 1,807
Intestino	1,737 ± 0,496	1,543 ± 0,274	1,291 ± 0,358	1,651 ± 0,340
Músculo EDL	0,403 ± 0,046	0,396 ± 0,049	0,440 ± 0,053	0,426 ± 0,074
Músculo Gastrocnêmio	4,224 ± 0,537	4,084 ± 0,399	4,578 ± 0,609	4,503 ± 0,424
Músculo Sóleo	0,421 ± 0,035	0,415 ± 0,050	0,439 ± 0,068	0,440 ± 0,070
Músculo Tibial	1,513 ± 0,110	1,552 ± 0,175	1,595 ± 0,194	1,732 ± 0,183
Pulmão	2,209 ± 0,480	2,400 ± 0,345	2,364 ± 0,316	2,364 ± 0,811
Reto	0,142 ± 0,025	0,125 ± 0,019	0,101 ± 0,026 ^a	0,102 ± 0,021
Rim Direito	1,283 ± 0,184	1,220 ± 0,076	1,323 ± 0,102	1,234 ± 0,100
Rim Esquerdo	1,284 ± 0,200	1,207 ± 0,083	1,340 ± 0,115	1,211 ± 0,129
TA Epididimal	5,492 ± 1,305	4,759 ± 1,257	14,992 ± 3,424 ^{ab}	7,826 ± 3,530 ^c
TA Inguinal	9,283 ± 2,252	7,178 ± 1,650	20,934 ± 3,632 ^{ab}	11,693 ± 5,095 ^{bc}
TA Retroperitoneal	5,18 ± 1,41	4,15 ± 1,46	16,56 ± 3,43 ^{ab}	8,80 ± 3,70
TA Marrom	0,399 ± 0,08	0,733 ± 0,095 ^a	0,666 ± 0,168 ^a	0,842 ± 0,158 ^a
Índice de Lee	0,307 ± 0,009	0,309 ± 0,019	0,329 ± 0,010 ^{ab}	0,313 ± 0,013
Adiposidade	4,987 ± 1,039	4,274 ± 0,546	10,527 ± 1,473 ^{ab}	6,626 ± 2,148 ^{bc}

As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni) e os dados expressos como média ± desvio padrão. Valores de p<0,05 foram considerados significantes. SDC - sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC, (c) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDRC.

6.4. Avaliação da influência da dieta rica em carboidratos simples e do treinamento de natação nos parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos Wistar machos, após 18 semanas de experimento.

Para avaliar o efeito da dieta rica em carboidratos simples na indução de alterações hematológicas e bioquímicas, ao final do experimento na 18ª semana, durante a eutanásia foram coletadas amostras de sangue e realizadas análises de diferentes metabólitos no soro dos animais em experimentação.

A partir da análise dos parâmetros hematológicos, foi possível observar que a dieta rica em carboidratos simples induziu apenas uma redução no número de leucócitos, porém sem significância clínica, já que a contagem de leucócitos está dentro dos parâmetros normais (Tabela 9). Já nos parâmetros bioquímicos a dieta rica em carboidratos simples induziu uma redução nos níveis séricos de uréia nos grupos SDRC e TDRC em relação ao grupo SDC, e um aumento nos níveis de triglicérides em relação ao grupo TDC.

Tabela 9: Parâmetros hematológicos dosados no sangue de ratos Wistar machos, após 18 semanas de experimento.

Parâmetros Hematológicos	Unidade	Média±SD	Média±SD	Média±SD	Média±SD
		SDC	TDC	SDRC	TDRC
Leucócitos	(10 ³ /μL)	11,70±1,15	13,40±1,15	9,62±2,70*	8,52±1,66*
Hemácias	(10 ³ /μL)	8,41±0,16	8,45±0,33	8,79±0,15	8,36±0,33
Hemoglobina	(g/dL)	15,88±0,45	16,14±0,60	15,40±0,45	15,54±0,71
Hematócrito	(%)	46,62±1,16	47,56±1,74	47,22±1,91	46,74±1,95
VCM	(f)	55,58±0,76	56,26±0,96	53,80±1,62	55,90±0,71
CHM	(pg)	18,88±0,31	17,88±2,57	17,54±0,29	18,60±0,40
CHCM	(g/dL)	34,18±0,33	34,00±0,44	32,60±0,42	33,50±0,65
RDW-SD	(fL)	30,04±1,19	30,28±0,93	30,26±0,71	31,04±1,30
RDW-CV	(%)	13,76±0,64	13,54±0,35	14,44±0,98	14,28±0,71
VPM	(fL)	7,36±0,46	7,04±0,47	7,12±0,35	7,22±0,35
Plaquetas	(10 ³ /μL)	796,8±125,95	674,40±119,42	768,00±129,73	755,60±106,29
Neutrófilos	(%)	21,20±3,11	22,40±5,85	27,00±2,55	23,40±4,39
Linfócitos	(%)	69,20±6,22	68,20±6,87	65,00±3,31	70,20±3,11
Monócitos	(%)	8,20±3,89	9,00±2,34	7,60±2,70	6,40±1,81
Eosinófilos	(%)	0,60±0,54	0,40±0,89	0,00±0,00	0,00±0,00

As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni) e os dados expressos como média ± desvio padrão. Valores de p<0,05 foram considerados significantes. SDC-sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (*) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC.

Tabela 10: Parâmetros bioquímicos séricos de ratos Wistar machos, após 18 semanas.

Parâmetros	Unidade	Média±SD	Média±SD	Média±SD	Média±SD
Bioquímicos		SDC	TDC	SDRC	TDRC
Ureia	mg/dL	72,20±6,47	60,92±6,75	58,58±4,99 ^b	56,21±8,49 ^b
Creatinina	mg/dL	0,72±0,11	0,78±0,09	0,76±0,11	0,95±0,27
TGO	mg/dL	272,40±94,97	431,83±200,38	268,81±60,28	501,30±216,59
TGP	mg/dL	80,92±21,57	80,40±10,37	84,08±42,37	85,09±25,06
Colesterol	mg/dL	97,88±29,10	77,75±14,76	77,62±14,08	71,91±15,73
HDL	mg/dL	26,34±2,07	24,43±5,45	23,07±4,13	24,24±4,95
Triglicérides	mg/dL	83,00±25,38	72,85±11,18	110,41±24,81 ^b	116,85±36,14 ^b
Glicemia	mg/dL	115,80±31,38	105,26±15,71	130,72±22,92	134,53±25,67
Insulina	mU/L	18,88±8,40	17,82±5,65	39,91±33,95	24,91±22,73
HOMA-β	-	151,17±111,06	175,50±64,12	242,98±213,58	104,48±80,75
HOMA-IR	-	5,33±2,44	4,53±1,66	12,14±10,15	9,36±9,27

As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni) e os dados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC-sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC.

6.5. *Teste oral de tolerância a glicose, após 18 semanas de experimento.*

Ao final da 18ª semana, realizou-se também o teste oral de tolerância a glicose (TTOG). A Figura 4 mostra que a dosagem de glicemia inicial (jejum) e a final (2 horas após a gavagem com dextrose á 40%) permaneceram dentro da faixa de normalidade. Tais dados analisados, não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$).

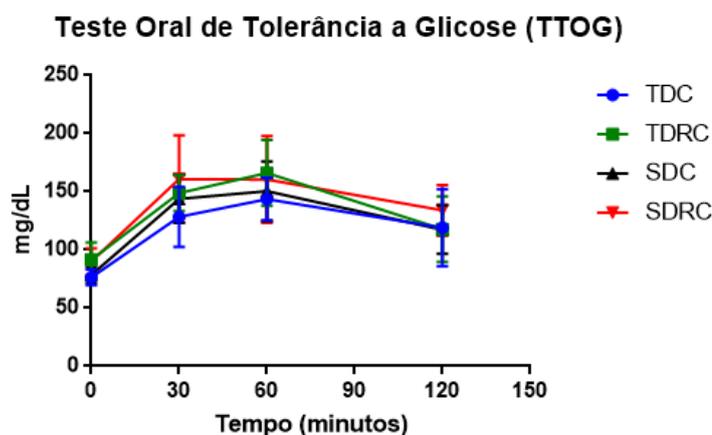


FIGURA 4: Teste de tolerância a glicose obtido a partir da glicemia média dos grupos estudados. Os dados expressos como média \pm desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas através do teste two-way ANOVA (pós teste de Bonferroni). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC - sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC - treinado dieta rica em carboidratos simples. (*) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC.

6.6. *Conteúdo lipídico do tecido renal dos animais após serem submetidos a 18 semanas de ingestão da dieta rica em carboidratos simples e treinamento físico de natação com carga.*

Para averiguar se a dieta rica em carboidratos simples tem um efeito no depósito ectópico de gordura no tecido renal, foi realizada a dosagem do conteúdo lipídico do tecido renal. A figura 5 mostra que a porcentagem de lipídios avaliada pela metodologia de Folch, não apresenta diferença estatística entre os grupos. Porém, a dosagem de triglicerídeos foi significativamente maior no grupo SDRC quando comparado ao grupo TDC.

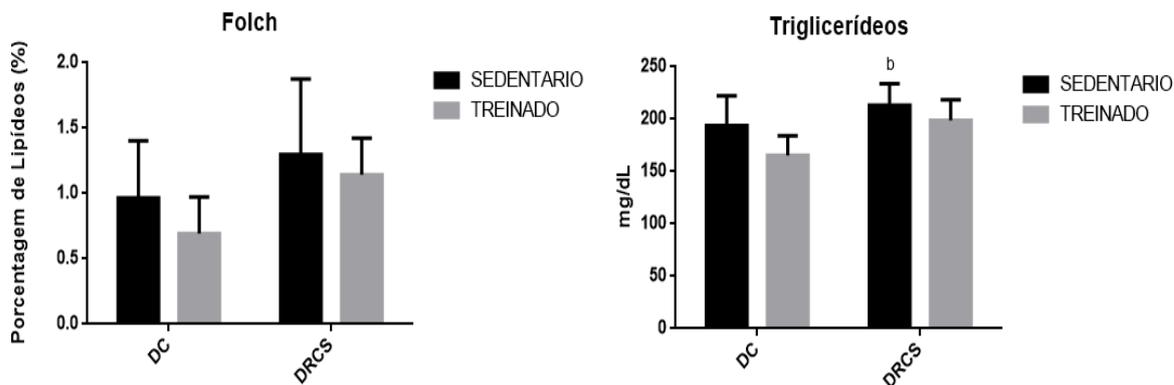


FIGURA 5: Conteúdo lipídico do tecido renal dos animais submetidos a 18 semanas de ingestão da dieta rica em carboidratos simples e treinamento físico de natação com carga. As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni) e os dados expressos como média \pm desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC - sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC, (c) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDRC.

6.7. Análise dos níveis de lactato nos animais treinados por 18 semanas.

A figura 6 mostra que não houve diferença estatística na concentração plasmática de lactato nos períodos de pré e pós treinamento, confirmando assim, que o treino realizado pelos animais se manteve em aerobiose.

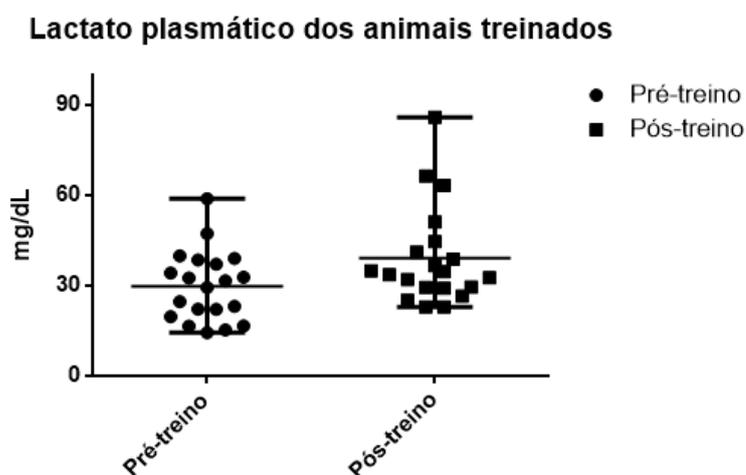


FIGURA 6: Avaliação dos níveis de lactato plasmático após 18 semanas de treinamento regular de natação com carga. A coleta sanguínea foi realizada em dois momentos, sendo a primeira enquanto os animais ainda se encontravam em repouso (pré-treino) e a segunda após 60 minutos de natação com carga (pós-treino). As análises estatísticas foram realizadas através do teste Wilcoxon. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

6.8. Efeitos da dieta rica em carboidratos simples e do treinamento físico de natação sobre os parâmetros bioquímicos na urina e histológicos do rim.

Os resultados apresentados na tabela 11, mostram que apesar da dosagem de proteinúria não apresentar diferença estatística, os animais que consumiram a dieta rica em carboidratos simples apresentaram hiperfiltração glomerular. Sugerindo que a dieta provoca disfunção renal. Para avaliar se tal disfunção foi capaz de provocar lesão no tecido e/ou fibrose renal, foi analisada por microscopia a área da cápsula de Bowmann, área glomerular, espaço capsular e colágeno total. Resultados mostram que não houve diferença estatística entre os grupos, confirmando assim, que o período experimental de 18 semanas não foi capaz de induzir fibrose renal. (Figura 7 e 8)

Tabela 11: Parâmetros bioquímicos dosados na urina de ratos Wistar machos, após 18 semanas de experimento.

Parâmetros	SDC	TDC	SDRC	TDRC
Creatinúria (mg/dL)	96,25 ± 15,06	113,0 ± 16,144	152,0 ± 39,50	166,87 ± 34,66 ^a
Proteinúria (mg/dL)	78,36 ± 18,45	75,73 ± 12,15	108,54 ± 32,81	129,13 ± 52,96
TFG (ml/24h)	1400,0 ± 20,20	1549,60 ± 24,4	2063,05 ± 56,3 ^a	2213,41 ± 64,2 ^{ab}

As análises estatísticas foram realizadas através do teste two-way ANOVA (pós teste de Bonferroni) e os dados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC-sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC, (c) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDRC.

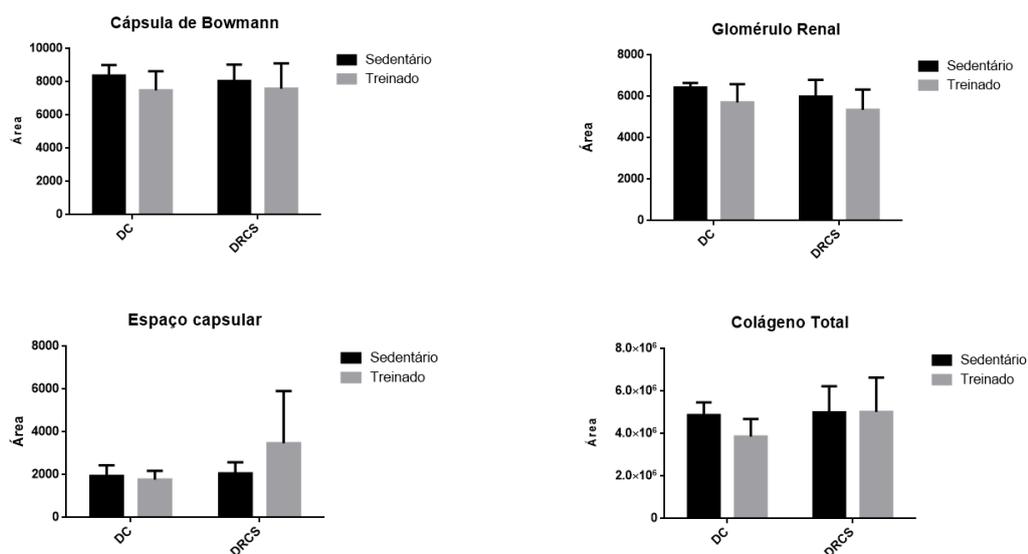


FIGURA 7: Avaliação da integridade glomerular e conteúdo de colágeno total no tecido. Os dados expressos como média \pm desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC-sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples.

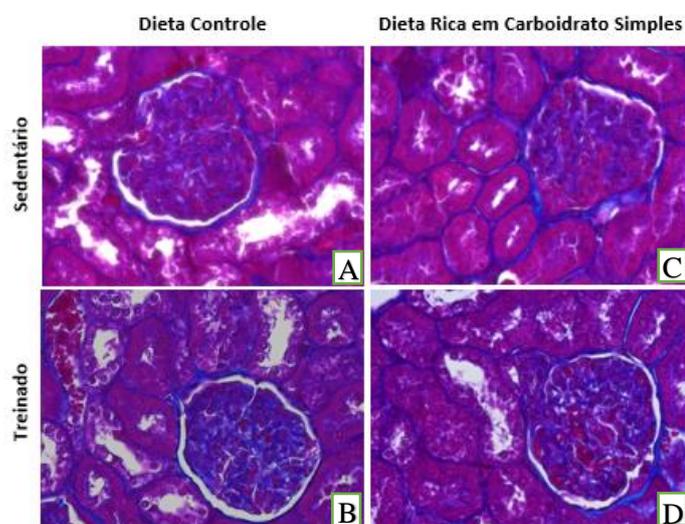


FIGURA 8: Fotomicrografias de seções histológicas do tecido renal dos animais de 18 semanas. Os dados são expressos como média \pm Desvio Padrão. Os efeitos da dieta e/ou treinamento físico foram comparados utilizando ANOVA two-way e os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. Aspecto histológico normal e não houve diferença estatística entre os grupos estudados quanto a morfologia. Coloração com tricrômio de Masson, barra = 50 μ m. (A) grupo SDC-sedentário dieta controle, (B) grupo TDC - treinado dieta controle, (C) grupo SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, (D) grupo TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples.

6.9. Avaliação da expressão das enzimas anti-oxidantes SOD e Catalase e medida da atividade da enzima SOD.

A figura 9 mostra que o treino aeróbico de natação com carga associado a dieta rica em carboidratos simples induziu um aumento na expressão relativa dos genes *MnSOD*, *ZnSOD* e *Catalase*, e que a dieta rica em carboidratos simples reduziu a expressão de *ZnSOD* quando comparado aos demais grupos e aumentou a expressão de relativa de *Catalase* em relação aos grupos SDC e TDC. Após observar alterações na expressão desses genes, avaliamos a necessidade de dosar a atividade da enzima superóxido dismutase (Figura 9). Entretanto não houve diferença estatística entre os grupos quanto a atividade da enzima superóxido dismutase.

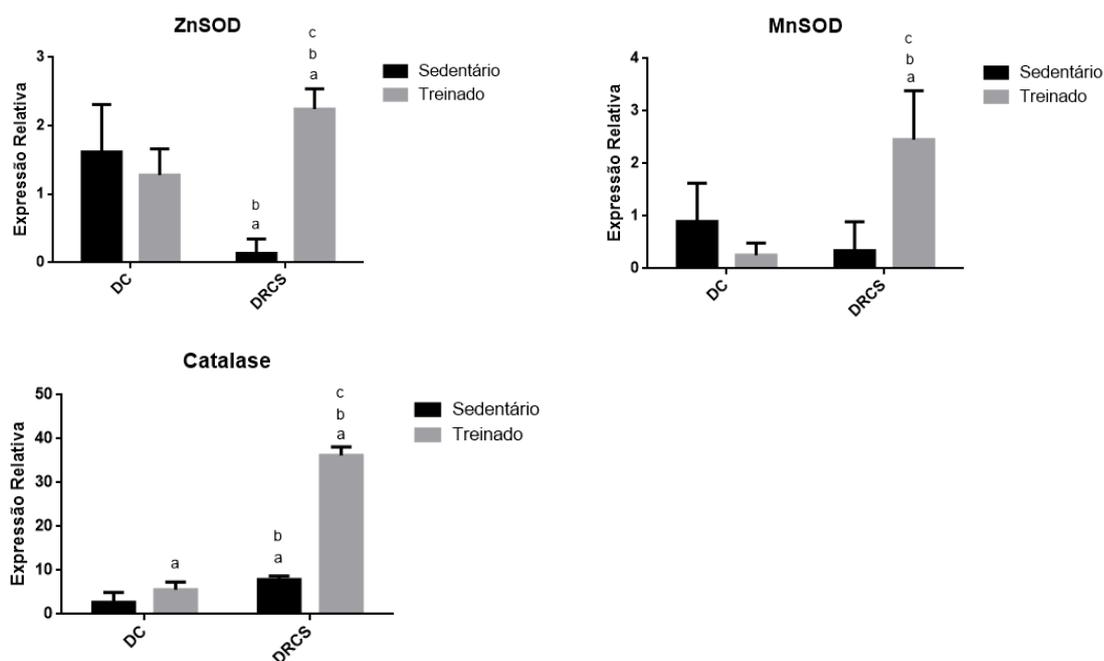


FIGURA 9: Perfil de expressão dos genes MnSOD, ZnSOD e Catalase no tecido renal dos animais de 18 semanas. Os dados são expressos como valores médios \pm desvio padrão da expressão fold change de mRNAs alvo em relação ao grupo calibrador (SDC). As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC-sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC, (c) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDRC.

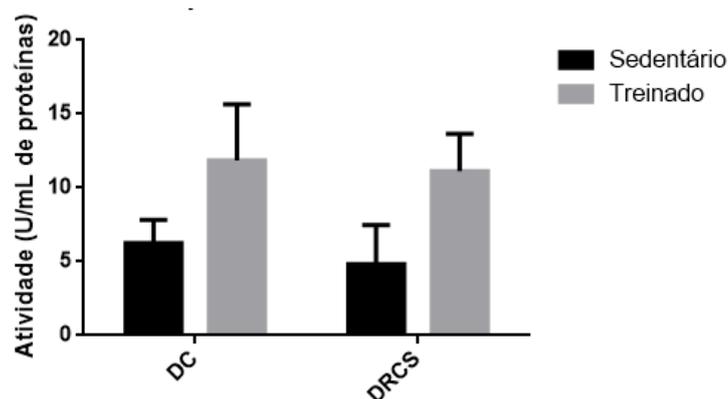


FIGURA 10: Atividade da enzima Superóxido Dismutase dos animais de 18 semanas. Os dados são expressos como média \pm Desvio Padrão. Os efeitos da dieta e/ou treinamento físico foram comparados utilizando ANOVA two-way e os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. (A) grupo SDC - sedentário dieta controle, (B) grupo TDC - treinado dieta controle, (C) grupo SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, (D) grupo TDRC - treinado dieta rica em carboidratos simples.

6.10. Perfil de expressão mRNA de sirtuínas (1-7) no tecido renal dos animais de 18 semanas

A figura 11 apresenta os resultados obtidos a partir da análise estatística da expressão das sirtuínas (1-7) em tecido renal. Os resultados demonstraram que o treino aeróbico de natação com carga associado com a dieta rica em carboidratos simples induziu uma modulação positiva da expressão da *Sirt3*, *Sirt4*, *Sirt5* e *Sirt6*. Já a dieta rica em carboidratos simples induziu uma modulação negativa sob a expressão de *Sirt2*, *Sirt3* e *Sirt7*.

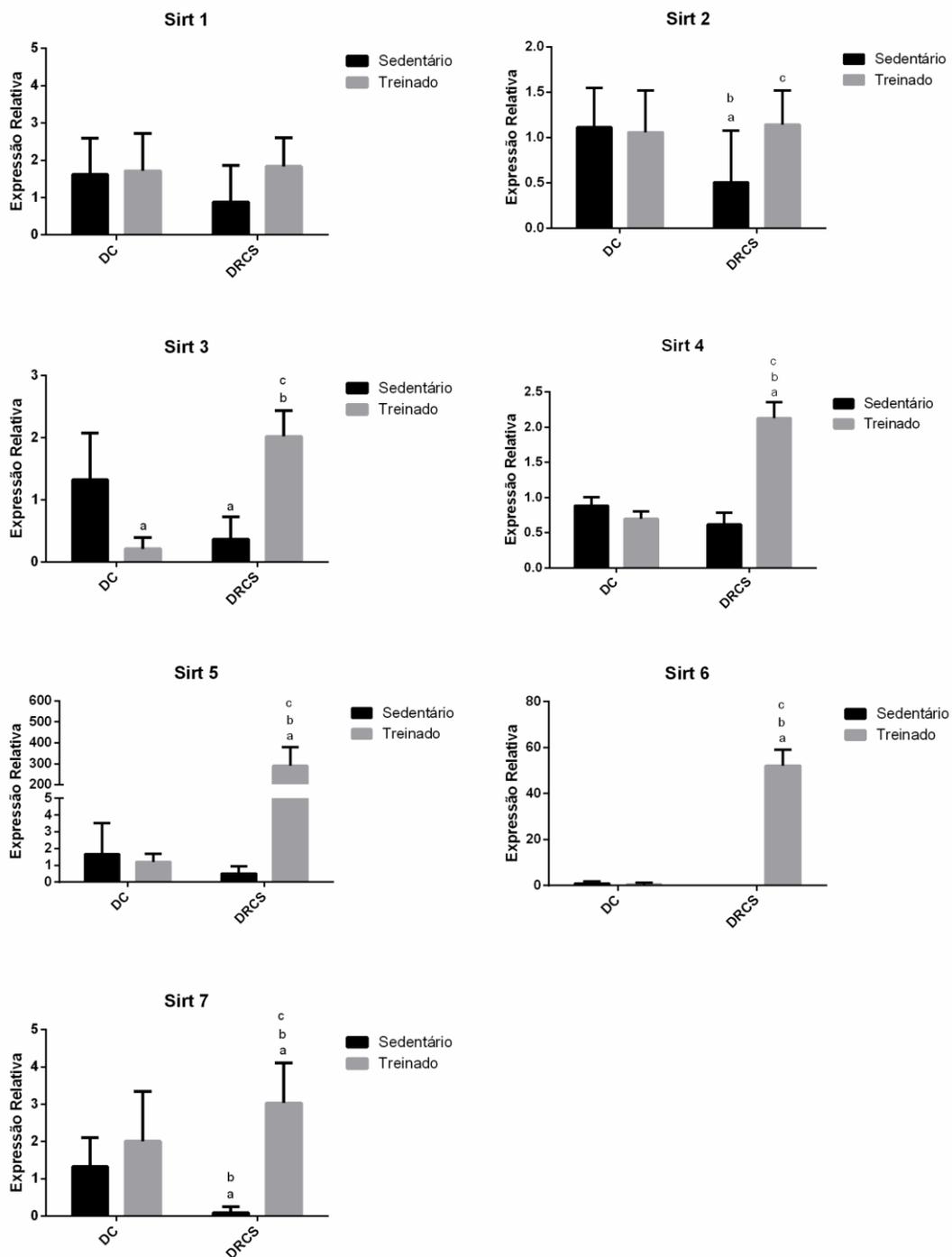


FIGURA 11: Perfil de expressão mRNA de sirtuínas (1-7) no tecido renal dos animais de 18 semanas. Os dados são expressos como valores médios \pm desvio padrão da expressão fold change de mRNAs alvos em relação ao grupo calibrador (SDC). As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC-sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC, (c) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDRC.

6.11. Perfil de expressão mRNA de metilases e desmetilases no tecido renal

A figura 12 mostra que a expressão de mRNA de metilases e desmetilases no tecido renal, observamos que o treino associado a dieta rica em carboidratos simples aumentou a expressão relativa de Dnmt3a, Dnmt3b, Tet2 e Tet3. Já a dieta rica em carboidratos simples diminuiu a expressão de Dnmt1 e Dnmt3b.

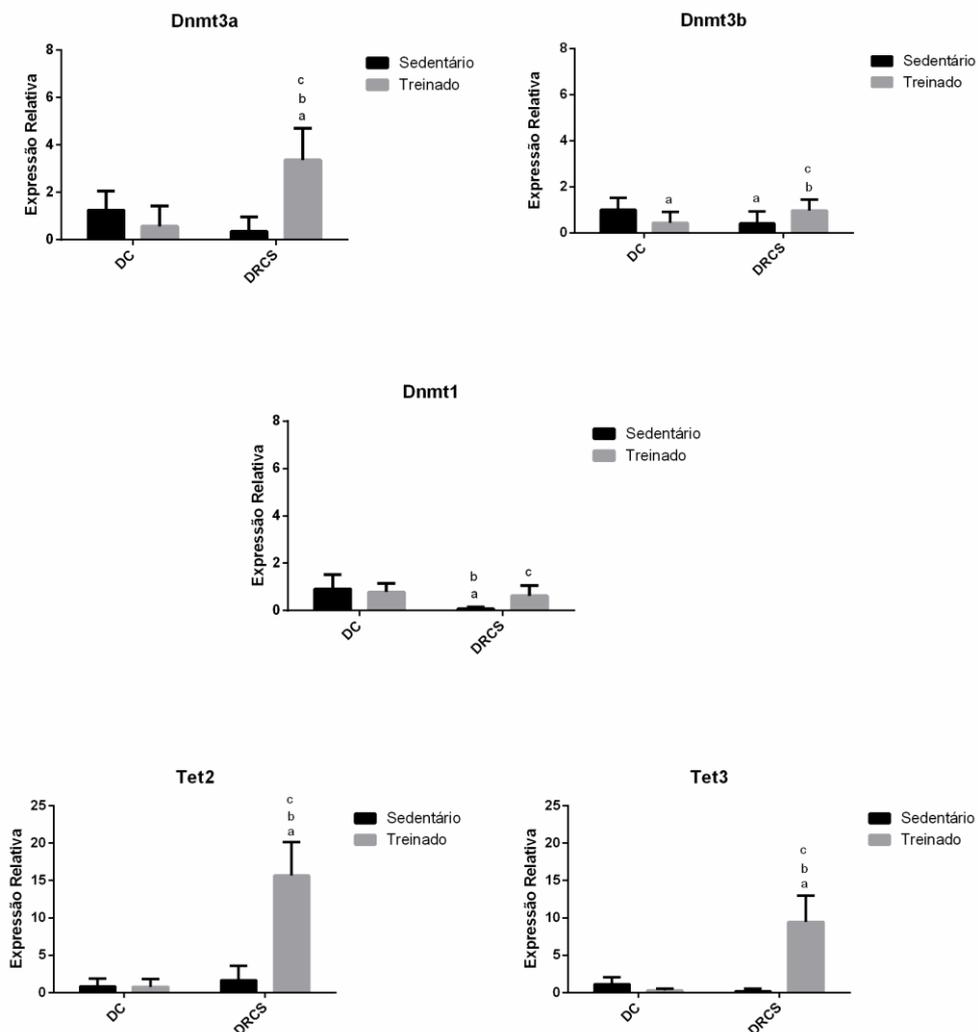


FIGURA 12: Perfil de expressão mRNA de metilases e desmetilases no tecido renal dos animais de 18 semanas. Os dados são expressos como valores médios \pm desvio padrão da expressão fold change de mRNAs alvos em relação ao grupo calibrador (SDC). As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA two-way (pós teste de Bonferroni). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. SDC-sedentário dieta controle, TDC - treinado dieta controle, SDRC - sedentário dieta rica em carboidratos simples, TDRC – treinado dieta rica em carboidratos simples. (a) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDC, (b) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo TDC, (c) para grupos estatisticamente diferentes em relação ao grupo SDRC.

7. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a interação da dieta e do exercício físico no desenvolvimento da obesidade induzida por dieta rica em carboidratos em ratos e os efeitos epigenéticos no rim. Vale ressaltar que, nas últimas décadas, diversos pesquisadores vêm atribuindo a obesidade como uma doença de caráter epigenético. Ou seja, fatores ambientais influenciariam a expressão de diversos genes capazes de modular a resposta metabólica dos diversos sistemas energéticos.

Resultados obtidos neste trabalho mostram que o consumo alimentar dos animais obesos foi maior, embora a quantidade calórica tenha sido menor. De fato, a palatabilidade dos ingredientes inseridos na dieta e seu poder dulçor podem ser fatores responsáveis pelo aumento desse consumo. Estudos mostram que a ingestão de alimentos doces causam sensação de prazer, por estimular, entre outras, vias serotoninérgicas relacionadas à decodificação de aferências relacionadas ao prazer. Entretanto, essas vias quando constantemente estimuladas podem se tornar compulsivas¹⁰³, o que justificaria o aumento do consumo alimentar dos animais em questão. Em consequência a esses fatores, animais do grupo SDRC apresentaram maior ganho de massa corporal, resultando em um aumento nos coxins gordurosos e consequentemente aumentando o índice de adiposidade e índice de Lee. Foi possível observar também que o treinamento físico de natação com carga, foi capaz de melhorar os parâmetros biométricos.

A dieta rica em carboidratos simples tem sido amplamente discutida na comunidade científica como tendo a seguinte composição: 65% de carboidratos totais (25% sacarose), 12,3% de proteínas, 4,3% de gorduras totais, totalizando 3,48Kcal/g^{104,105,106}. Contudo, a dieta rica em carboidratos utilizada neste trabalho

¹⁰³ DREWNOWSKI, Adam *et al*, Sweetness and food preference, **The Journal of Nutrition**, v. 142, n. 6, p. 1142S–8S, 2012.

¹⁰⁴ DE QUEIROZ, Karina Barbosa *et al*, Endurance Training Increases Leptin Expression in the Retroperitoneal Adipose Tissue of Rats Fed with a High-Sugar Diet, **Lipids**, v. 49, n. 1, p. 85–96, 2014.

¹⁰⁵ DE QUEIROZ *et al*, Molecular mechanism driving retroperitoneal adipocyte hypertrophy and hyperplasia in response to a high-sugar diet.

¹⁰⁶ VAISY, Morad *et al*, Hyperglycemic diet and training alter insulin sensitivity, intramyocellular lipid content but not UCP3 protein expression in rat skeletal muscles, **International Journal of Molecular Medicine**, v. 25, n. 6, p. 905–913, 2010.

demonstrou a partir da análise bromatológica que a composição da dieta é diferente daquela reportada na literatura, bem como o teor calórico. Porém, ela ainda possui maior teor de carboidratos e menor teor de outros macronutrientes e fibras totais quando comparado à dieta controle. Ainda, as duas dietas utilizadas nesse trabalho possuem valor energético equivalentes podendo ser consideradas isocalóricas. Vale ressaltar que também encontramos valores distintos daqueles disponíveis no rótulo na análise bromatológica da dieta controle.

Frequentemente tem-se discutido sobre a composição ideal das dietas devido ao crescente aumento de obesidade em todo mundo. As diretrizes atuais indicam dietas com baixo teor de lipídeos, enquanto há um aumento no consumo de dietas com alto índice de carboidratos refinados. No entanto, o consumo exagerado da dieta rica em carboidratos pode induzir alterações no metabolismo da glicose¹⁰⁷, na expressão de genes relacionados à lipogênese e diferenciação celular, promovendo o excesso de peso e doenças associadas^{108,109}. A dieta utilizada por nosso grupo de pesquisa tem se mostrado favorável ao aumento de massa corporal, depósitos de gordura e aumento no índice de Lee e adiposidade a partir de 8 semanas de consumo da dieta^{110,111,112}. Além disso, essa dieta também altera padrões de expressão de genes adipogênicos e anti-adipogênicos favorecendo o acúmulo de gorduras¹¹³. Os animais pertencentes ao grupo que recebeu a dieta rica em carboidratos simples também apresentaram a aumento significativo de massa corporal, do índice de Lee e adiposidade, além do aumento na massa dos tecidos

¹⁰⁷ WALDMAN, Hunter S. *et al*, A shift toward a high-fat diet in the current metabolic paradigm: A new perspective, **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 46, p. 33–35, 2018.

¹⁰⁸ VIDA, Margarita *et al*, CB1 blockade potentiates down-regulation of lipogenic gene expression in perirenal adipose tissue in high carbohydrate diet-induced obesity, **PloS One**, v. 9, n. 2, p. e90016, 2014.

¹⁰⁹ GIARDINA, Simona *et al*, Modulation of Human Subcutaneous Adipose Tissue MicroRNA Profile Associated with Changes in Adiposity-Related Parameters, **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 2, 2018.

¹¹⁰ PINTO, Bruno Araújo Serra *et al*, Early and sustained exposure to high-sucrose diet triggers hippocampal ER stress in young rats, **Metabolic Brain Disease**, v. 31, n. 4, p. 917–927, 2016.

¹¹¹ SOUSA, Rosângela Maria Lopes *et al*, Long-term high-protein diet intake reverts weight gain and attenuates metabolic dysfunction on high-sucrose-fed adult rats, **Nutrition & Metabolism**, v. 15, p. 53, 2018.

¹¹² SANTOS, T.A.P.D., Efeito Temporal da Dieta Rica em Carboidratos Simples e do Treinamento Físico de Natação Sobre Modificações Epigenéticas e Expressão de Sirtuínas no Tecido Adiposo de Ratos, 2108.

¹¹³ DE QUEIROZ *et al*, Molecular mechanism driving retroperitoneal adipocyte hypertrophy and hyperplasia in response to a high-sugar diet.

adiposos epididimal, retroperitoneal e ingnal, mostrando que a dieta utilizada é eficiente para induzir obesidade.

Levando em consideração se as diferenças estatísticas se manifestariam em alterações clínicas proeminentes ao o estado metabólico e a função dos órgãos^{114,115}, avaliamos parâmetros bioquímicos e hematológicos.

Foram observadas poucas alterações em relação aos parâmetros bioquímicos. E, apesar de haver uma diferença significativa nos níveis séricos de ureia, nos animais que consumiram a dieta rica em carboidratos simples, este parâmetro ainda permanece na faixa de normalidade dentro dos valores de referência^{116,117}. A redução nos níveis de ureia deve ser cominada a menor ingestão de proteínas, sendo que a dieta rica em carboidratos simples contém menor conteúdo proteico que a dieta controle¹¹⁸. Quanto ao perfil lipídico, o nível sérico de triglicérides foi aumentado nos grupos que consumiram a dieta rica em carboidratos simples. E, o treino aeróbico de natação não foi capaz de reverter este parâmetro.

Dados anteriores do nosso laboratório mostram que em relação ao metabolismo de glicose, embora não haja uma alteração na concentração sérica de glicose em jejum nem no TTOG, existe um aumento na concentração plasmática de insulina nos ratos submetidos a dieta rica em carboidratos simples¹¹⁹, levando ao um quadro de resistência à insulina, que precede a instalação de diabetes *mellitus* tipo 2. Nossos resultados de concentração de glicose e TTOG corroboram com esses achados, porém esses dados em

¹¹⁴ BIRGEL JUNIOR, E. H. *et al*, Valores de referência do eritrograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 2, p. 1–9, 2001.

¹¹⁵ BOEHM, Olaf *et al*, Clinical chemistry reference database for Wistar rats and C57/BL6 mice, **Biological Chemistry**, v. 388, n. 5, p. 547–554, 2007.

¹¹⁶ MELO, M G D *et al*, Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe, **Scientia Plena**, p. 6, 2012.

¹¹⁷ LIMA, C.M. *et al*, Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes.

¹¹⁸ BURTIS, C.; ASHWOOD, E.; BRUNS, D. E., **Tietz fundamentos de química clínica**, 6 ed. [s.l.: s.n.], 2008.

¹¹⁹ SANTOS, T.A.P.D., Efeito Temporal da Dieta Rica em Carboidratos Simples e do Treinamento Físico de Natação Sobre Modificações Epigenéticas e Expressão de Sirtuínas no Tecido Adiposo de Ratos.

relação a concentração de insulina não foram conclusivos e futuros experimentos serão realizados para averiguar a resistência à insulina.

Dietas com elevado índice glicêmico têm sido sugeridas como possível fator desencadeante da obesidade, considerada fator de risco convincente no desenvolvimento de diversas doenças crônicas^{120, 121}.

Durante o período experimental houve a morte precoce de 1 animal do grupo SDC e 3 animais do grupo TDRC. O que nos levou a acreditar que alguns animais poderiam estar doentes. Então, junto aos veterinários e a diretoria do CCA, levantamos a hipótese de que os ratos estariam infectados por *Mycoplasma*, uma bactéria capaz de comprometer o funcionamento pulmonar¹²². Confirmando esta hipótese, resultados do nosso laboratório, obtidos através da histologia pulmonar (comunicação pessoal) apresentam alterações ocasionadas por bactérias. Além disso, foi realizado o sequenciamento do gene 16S rRNA que identificou bactérias patogênicas (comunicação pessoal), sendo elas do gênero *Mycoplasma* e *Mycobacterium* nas fezes dos animais. Logo, se fez necessário a análise hematológica para avaliar o estado de saúde geral dos animais^{123,124}. E, apesar de haver uma diferença significativa na contagem de leucócitos da série branca do hemograma, estes dados não apresentam significância clínica, pois ainda permanecem dentro da faixa de normalidade dos valores de referência^{125,126}.

Para avaliar o treinamento físico realizado pelos animais em nosso estudo, os níveis plasmáticos de lactato foram dosados, e os resultados confirmaram que o treino de

¹²⁰ NISHIDA, Chizuru *et al*, The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications, **Public Health Nutrition**, v. 7, n. 1a, p. 245–250, 2004.

¹²¹ SARTORELLI, Daniela S.; CARDOSO, Marly A., Association between dietary carbohydrates and type 2 diabetes mellitus: epidemiological evidences, **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 3, p. 415–426, 2006.

¹²² BARRETO, Maria Lucia *et al*, Detection of *Mycoplasma pulmonis* in laboratory rats, **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 260–264, 2002.

¹²³ BIRGEL JUNIOR *et al*, Valores de referência do eritrograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo.

¹²⁴ BOEHM *et al*, Clinical chemistry reference database for Wistar rats and C57/BL6 mice.

¹²⁵ MELO *et al*, Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe.

¹²⁶ LIMA *et al*, Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes.

natação com carga é considerado aeróbico, já que os níveis de lactato se mantiveram estável¹²⁷.

Dados do nosso estudo, mostram que a porcentagem de lipídios avaliada pela metodologia de Folch, não apresenta diferença estatística entre os grupos. Porém, a dosagem de triglicerídeos no tecido renal, foi significativamente maior no grupo SDRC quando comparado ao grupo TDC. Estes resultados sugerem que os animais do grupo SDRC, têm maior susceptibilidade em desenvolver disfunções renais devido ao acúmulo ectópico de gordura.

Em condições metabólicas normais, os triglicerídeos se acumulam preferencialmente no tecido adiposo. Mas, quando a ingestão calórica é maior que o gasto, esse desequilíbrio pode levar ao acúmulo de gordura em outros tecidos¹²⁸, tais como: rins, fígado, pâncreas, coração e músculo esquelético^{129,130}. A deposição de gordura ectópica pode ocasionar um processo denominado lipotoxicidade, onde o acúmulo de ácidos graxos não esterificados no citoplasma de células, podem causar disfunção ou morte celular. Estudos sugerem que o conteúdo lipídico renal, já descrito em vários modelos animais, pode levar à disfunção renal¹³¹.

Para avaliar a função renal dos animais, utilizamos dois métodos. No primeiro avaliamos os parâmetros bioquímicos, em que dosamos a creatinúria, proteinúria e calculamos a TFG. Em seguida, analisamos histologicamente estruturas do rim e a área de colágeno total para avaliar a presença de fibrose renal. Nossos resultados mostram os animais do grupo SDRC e TDRC apresentam a função renal diminuída quando comparado aos animais do grupo controle, pois os animais que consumira a dieta rica em carboidratos simples tiveram uma hiperfiltração. Corroborando com nossos resultados, num estudo realizado por Timo Rieg, também foi observado a TFG aumentada em ratos

¹²⁷ POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T., **Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho**, 2 ed. [s.l.: s.n.], 2000.

¹²⁸ ¹²⁸SAKHAEE, Khashayar, Recent advances in the pathophysiology of nephrolithiasis, **Kidney international**, v. 75, n. 6, p. 585–595, 2009.

¹²⁹ ¹²⁹VAN HERPEN, N. A.; SCHRAUWEN-HINDERLING, V. B., Lipid accumulation in non-adipose tissue and lipotoxicity, **Physiology & Behavior**, v. 94, n. 2, p. 231–241, 2008, p. .

¹³⁰ *Ibid.*

¹³¹ ¹³¹BOBULESCU, Ion Alexandru, Renal lipid metabolism and lipotoxicity, **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 19, n. 4, p. 393–402, 2010.

selvagens que desenvolveram Diabetes mellitus tipo I induzida por uma droga conhecida como estreptozotocina¹³². Além disso, um estudo realizado em 2013 por Xavier *et al.*, mostrou que pacientes com hipertrigliceridemia apresentam a TFG reduzida¹³³.

Resultados da análise histológica do tecido renal de nossos animais, mostram que não houve diferença estatística entre os grupos, sugerindo que apesar da dieta prejudicar a função renal, o período experimental de 18 semanas não foi capaz de induzir fibrose renal.

A fibrose renal é um determinante comum para a maioria das doenças que evoluem para insuficiência renal crônica. Sabe-se também que a produção de EROS estimula a deposição de matriz extracelular que deteriora a função do órgão e destrói sua arquitetura. As EROS são mediadoras importantes dos efeitos adversos do sistema renina-angiotensina-aldosterona no tecido renal e vascular¹³⁴. Estudos recentes associaram a produção de EROS à fibrose renal em diferentes doenças, incluindo a nefropatia diabética e crônica.¹³⁵ Sabe-se ainda que o rim é naturalmente afetado pelo o processo de envelhecimento, e a idade aumenta a fibrose intersticial e a glomeruloesclerose. Essas alterações são ocasionadas, dentre outras, pelo aumento de EROS que ocorre em decorrência ao envelhecimento. O excesso de EROS está associado a alterações do metabolismo mitocondrial, com perda da sua função, ocasionando dano celular que, por sua vez pode resultar em doença crônica e fibrose renal¹³⁶.

Apesar de não haver alterações histológicas, foi verificado a influência da dieta rica em carboidratos simples e do treino aeróbico em eventos moleculares, uma vez que alterações na expressão gênica precedem as alterações bioquímicas e histológicas¹³⁷.

A metilação do DNA é um dos eventos moleculares mais estudado e possui um papel importante durante o período da embriogênese e desenvolvimento inicial. A exposição

¹³² AU - RIEG, Timo, A High-throughput Method for Measurement of Glomerular Filtration Rate in Conscious Mice, **JoVE**, n. 75, p. e50330, 2013.

¹³³ ¹³³XAVIER, H. T. *et al*, V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 1–20, 2013.

¹³⁴ GUIMARÃES-SOUZA, Nadia Karina *et al*, Superoxide overproduction and kidney fibrosis: a new animal model, **Einstein (São Paulo)**, v. 13, n. 1, p. 79–88, 2015.

¹³⁵ FUJITA, Hiroki *et al*, Reduction of renal superoxide dismutase in progressive diabetic nephropathy, **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 20, n. 6, p. 1303–1313, 2009.

¹³⁶ ¹³⁶GUIMARÃES-SOUZA *et al*, Superoxide overproduction and kidney fibrosis.

¹³⁷ MOORE, KEITH L. ET AL, **Embriologia clínica**, [s.l.: s.n.], 2016.

apropriada a moduladores epigenéticos provenientes da dieta que tendem para reprogramação da metilação do DNA, pode interferir positivamente na reprogramação epigenética e na prevenção de doenças¹³⁸. Na metilação do DNA, temos a hipometilação e a hipermetilação, onde a hipometilação pode desencadear à ativação de genes silenciados aumentando a expressão gênica, enquanto a hipermetilação reduz a expressão de genes-alvo¹³⁹.

Em 2014 QUEIROZ *et al.*, analisaram um perfil de genes adipogênicos no tecido adiposo de ratos alimentados com uma dieta rica em carboidratos simples em diferentes períodos. Além disso, dados do nosso laboratório tem demonstrado uma alteração no perfil de metilação do DNA tanto no tecido adiposo retroperitoneal, quanto nos hepatócitos (comunicação pessoal). Esses resultados nos levaram a hipótese de que alterações na expressão gênica poderia ocorrer pela modificação do perfil de metilação do DNA^{140,141}.

Em nossa pesquisa, avaliamos a expressão de mRNA de metilases e desmetilases no tecido renal, e observamos que o treino associado à dieta rica em carboidratos simples aumentou a expressão relativa de Dnmt3a, Dnmt3b, Tet2 e Tet3. Já o consumo da dieta rica em carboidratos simples em animais sedentários diminuiu a expressão de Dnmt1 e Dnmt3b. Estes resultados sugerem que o treino regular de natação atua prevenindo desenvolvimento de doenças. Contudo, a investigação da metilação dos promotores desses genes será essencial para comprovar essa hipótese.

Também foi objetivo do nosso trabalho avaliar o perfil dos biomarcadores epigenéticos relacionados à programação metabólica. A partir da expressão relativa de sirtuínas (Figura 11), foi possível avaliar as alterações gênicas ocasionados pela dieta rica em carboidratos simples e treino aeróbico de natação com carga. Resultados obtidos a

¹³⁸ LI, Yuanyuan; SALDANHA, Sabita N.; TOLLEFSBOL, Trygve O., Impact of Epigenetic Dietary Compounds on Transgenerational Prevention of Human Diseases, **The AAPS Journal**, v. 16, n. 1, p. 27–36, 2013.

¹³⁹ ONG, Thomas Prates; MORENO, Fernando Salvador; ROSS, Sharon Ann, Targeting the epigenome with bioactive food components for cancer prevention, **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 4, n. 5, p. 275–292, 2011.

¹⁴⁰ DE QUEIROZ *et al*, Molecular mechanism driving retroperitoneal adipocyte hypertrophy and hyperplasia in response to a high-sugar diet.

¹⁴¹ SANTOS, Epigenética no tecido adiposo retroperitoneal de ratos: foco em metilação de DNA e expressão de sirtuínas.

partir da análise estatística da expressão das sirtuínas (1-7) em tecido renal demonstraram que o treino aeróbico de natação com carga associado com a dieta rica em carboidratos simples induziu uma modulação positiva da expressão das sirtuínas mitocondriais *Sirt3*, *Sirt4*, *Sirt5* e da sirtuína nuclear *Sirt6*.

De acordo com a literatura, diversas patologias estão envolvidas com a disfunção e/ou dano mitocondrial, incluindo entre essas a doenças renais crônicas^{142,143,144}. Diante disso, nossos resultados sugerem que a associação entre dieta rica em carboidratos simples e treino aeróbico de natação com carga, induziu uma melhora na atividade mitocondrial e conseqüentemente reduziu danos ao tecido renal. Já em animais sedentários, a dieta rica em carboidratos simples induziu uma modulação negativa sobre a expressão de *Sirt2*, *Sirt3* e *Sirt7*.

Corroborando com estes dados, estudos recentes mostraram que *Sirt3* está envolvida reprogramação metabólica e na manutenção da integridade mitocondrial e que o aumento do estresse oxidativo no rim diabético pode ser mediado pela redução da atividade de *Sirt3*^{145,146}. Um outro estudo conferiu que *Sirt3* atua como um renoprotetor a partir de melhorias na dinâmica mitocondrial. E que, a superexpressão de *Sirt3* protege as células contra a apoptose, agindo sobre genes alvo do Fator Nuclear Kappa β (NF- κ B), como MnSOD, tornando as células resistentes à lesão celular mediada por peróxido de hidrogênio^{147,148}.

¹⁴² TANG, Chengyuan; DONG, Zheng, Mitochondria in Kidney Injury: When the Power Plant Fails, **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 27, n. 7, p. 1869–1872, 2016.

¹⁴³ ZHAN, Ming *et al*, Mitochondrial dynamics: regulatory mechanisms and emerging role in renal pathophysiology, **Kidney International**, v. 83, n. 4, p. 568–581, 2013.

¹⁴⁴ **Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of renal diseases | American Journal of Physiology-Renal Physiology**, disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/ajprenal.00571.2013>>, acesso em: 28 fev. 2019.

¹⁴⁵ BATISTA, Maria Esilene Valença; DE LUCENA, Thaís Luckwü, PAPEL BIOLÓGICO DAS SIRTUÍNAS NO PROCESSO DE ENVELHECIMENTO HUMANO: MINI-REVISÃO., p. 6, .

¹⁴⁶ OGURA, Yoshio *et al*, Renal mitochondrial oxidative stress is enhanced by the reduction of Sirt3 activity, in Zucker diabetic fatty rats, **Redox Report: Communications in Free Radical Research**, v. 23, n. 1, p. 153–159, 2018.

¹⁴⁷ MORIGI, Marina *et al*, Sirtuin 3–dependent mitochondrial dynamic improvements protect against acute kidney injury, **The Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 2, p. 715–726, 2015.

¹⁴⁸ CHEN, Chun-Juan *et al*, SIRT3 protects cardiomyocytes from oxidative stress-mediated cell death by activating NF- κ B, **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 430, n. 2, p. 798–803, 2013.

Pouco se sabe a respeito da função de *Sirt4* sobre os mecanismos mitocondriais, entretanto estudos indicam que *Sirt4* regula a oxidação de ácidos graxos, secreção de insulina e atua na homeostase da glicose durante o envelhecimento. Foi verificado também, que *Sirt4* regula a resposta metabólica celular ao dano no DNA, inibindo o metabolismo da glutamina mitocondrial. Além disso, observou-se também que *Sirt4* exerce capacidade supressora de tumor, e que os níveis *Sirt4* são regulados negativamente no carcinoma de células renais renais^{149,150,151,152}.

Ainda sobre a função das sirtuínas na regulação metabólica das mitocôndrias, WANG *et al.*, descreve que a *Sirt5* regula parcialmente a atividade mitocondrial através de mecanismos de succinilação, malonilação e acilação de proteínas. E que a super-acilação prejudica a função mitocondrial e a homeostase metabólica¹⁵³. Em um outro estudo, foi observado que a deficiência de *Sirt5* diminui a produção mitocondrial de ATP e em resposta ao estresse energético promove a ativação da Proteína Quinase Ativada por Adenosina Monofosfato (AMPK)¹⁵⁴. Como citado anteriormente, *Sirt5* também participa no controle a cetogenese e tem um papel importante no fluxo energético e na via da glicólise¹⁵⁵.

Dados anteriores do nosso laboratório, mostrou que o treinamento físico regular tem um efeito protetor em animais obesos alimentados com uma dieta rica em

¹⁴⁹ JEONG, Seung Min *et al*, SIRT4 has tumor-suppressive activity and regulates the cellular metabolic response to DNA damage by inhibiting mitochondrial glutamine metabolism, **Cancer Cell**, v. 23, n. 4, p. 450–463, 2013.

¹⁵⁰ BATISTA; DE LUCENA, PAPEL BIOLÓGICO DAS SIRTUÍNAS NO PROCESSO DE ENVELHECIMENTO HUMANO: MINI-REVISÃO.

¹⁵¹ CHEN, Zhouxun *et al*, SIRT4 protein levels are downregulated in kidney renal clear cell carcinoma, p. 8, .

¹⁵² CSIBI, Alfred *et al*, The mTORC1 pathway stimulates glutamine metabolism and cell proliferation by repressing SIRT4, **Cell**, v. 153, n. 4, p. 840–854, 2013.

¹⁵³ **Sirt5 Plays a Critical Role in Mitochondrial Protein Acylation and Mitochondrial Metabolic Homeostasis in Brown Fat | Diabetes**, disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/67/Supplement_1/274-OR>, acesso em: 28 fev. 2019.

¹⁵⁴ ZHANG, Mengli *et al*, SIRT5 deficiency suppresses mitochondrial ATP production and promotes AMPK activation in response to energy stress, **PLOS ONE**, v. 14, n. 2, p. e0211796, 2019.

¹⁵⁵ NISHIDA *et al*, SIRT5 Regulates both Cytosolic and Mitochondrial Protein Malonylation with Glycolysis as a Major Target.

carboidratos simples, prevenindo a disfunção mitocondrial e a resistência à insulina após um período de 8 semanas¹⁵⁶.

Sabe-se que as sirtuínas regulam a expressão e/ou atividade das enzimas que controlam o estresse oxidativo, e como dito anteriormente, o estresse oxidativo está associado à DRC. As espécies reativas de oxigênio são produtos normais do metabolismo aeróbico, incluindo por exemplo o peróxido de hidrogênio, o ânion superóxido, radical hidroxila e o peroxinitrito. Dessa forma, para evitar os danos provocados pelas EROS, as células possuem enzimas antioxidantes, capazes de neutralizar essas moléculas. A principal enzima antioxidante para a remoção do superóxido é a Superóxido Dismutase (SOD). A quebra dos filamentos de DNA, peroxidação lipídica e a oxidação de proteínas podem ser ocasionadas pelo o acúmulo de EROS, isso acontece quando a produção de EROS extrapola os mecanismos de defesa antioxidante¹⁵⁷.

A superóxido dismutase e a catalase são enzimas importantes para manter o equilíbrio redox. A enzima SOD é um defensor importante contra o superóxido. Mecanismos de produção de superóxido na nefropatia diabética ainda não são completamente compreendidos. Mas é sabido que excesso de superóxido resultante do diabetes, desempenha um papel central no dano tecidual¹⁵⁸.

Para avaliar o estresse oxidativo em tecido renal ocasionados pela dieta rica em carboidratos simples e treinamento físico de natação, fez-se necessário avaliar a expressão dos genes de *ZnSOD*, *MnSOD* e *Cat* e por qRT-PCR, e posteriormente relacionar os resultados da expressão desses genes com a atividade da enzima superóxido dismutase.

Dados do nosso estudo mostram que o treino aeróbico de natação com carga associado a dieta rica em carboidratos simples induziu um aumento na expressão relativa dos genes *MnSOD*, *ZnSOD* e *Catalase*, e que a dieta rica em carboidratos simples reduziu a expressão de *ZnSOD* quando comparado aos demais grupos e aumentou a expressão de relativa de *Cat* em relação aos grupos SDC e TDC. Devido a maior expressão de *SOD* e

¹⁵⁶ QUEIROZ, Karina Barbosa de *et al*, Physical activity prevents alterations in mitochondrial ultrastructure and glucometabolic parameters in a high-sugar diet model, **PLOS ONE**, v. 12, n. 2, p. e0172103, 2017.

¹⁵⁷ ¹⁵⁷SIES, H., Oxidative stress: oxidants and antioxidants, **Experimental Physiology**, v. 82, n. 2, p. 291–295, 1997.

¹⁵⁸ FUJITA *et al*, Reduction of renal superoxide dismutase in progressive diabetic nephropathy.

Cat no grupo TDCS, realizamos também a dosagem da atividade das enzimas superóxido dismutase. Os resultados mostraram que, embora a expressão a nível transcricional das enzimas *SOD* tenha sido expressivamente maior no grupo TDCS, esse aumento não refletiu na atividade enzimática. Dados mostram que não houve diferença estatística entre os grupos quanto à atividade da enzima superóxido dismutase.

A epigenética oferece a promessa de fornecer uma melhor compreensão dos eventos moleculares envolvidos no desenvolvimento de doenças metabólicas, especialmente da obesidade, o que certamente permitirá a identificação de biomarcadores epigenéticos de prognóstico e assim a identificação e estratificação dos pacientes com aumento do risco de desenvolvimento e progressão da obesidade. Isso é especialmente interessante e importante porque já é bem estabelecido a influência dos fatores ambientais que modulam o ganho de peso e desenvolvimento da obesidade. O uso de organismos modelo como ratos Wistar permite uma triagem rápida e eficaz dos processos epigenéticos mais relevantes, permitindo inclusive avaliar a estabilidade intergeracional e transgeracional. Por fim, acreditamos que o cenário epigenético deve levar em consideração o envelhecimento natural e na presença de ambiente de "doença", como por exemplo, hiperglicidemia, resistência à insulina e disfunção renal.

Essa abordagem é desafiadora, dada a heterogeneidade e complexidade dos eventos epigenéticos, mas poderia ter benefícios consideráveis para permitir a identificação de novos biomarcadores com potencial para melhorar a saúde funcional humana. As alterações na expressão de biomarcadores epigenéticos estudados nesse trabalho sugerem a continuação, avaliando a expressão de miRNAs e RNAs longos.

8. CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa, nos permitem ressaltar a importância da composição dietética dos alimentos e do treinamento físico, uma vez que a interação entre a dieta rica em carboidratos simples e o treinamento aeróbico de natação com carga se mostrou capaz de modular a expressão gênica de sirtuínas e reprogramar ao nível epigenético o metabolismo do tecido renal. A dieta rica em carboidratos simples alterou o metabolismo lipídico, assim como o peso corporal e a massa gorda, levando ao estabelecimento da obesidade. Entretanto, o treinamento físico de natação com carga mostrou-se eficaz na reversão desse fenótipo. Ainda, a dieta rica em carboidrato simples prejudicou a função renal dos animais sedentários e treinados. Contudo, a interação desta dieta e do treino de natação regulou positivamente a expressão das sirtuínas 3, 4, 5, 6 e 7, assim como induziu um aumento na expressão a nível transcricional das enzimas SOD e catalase. Conclui-se que a expressão gênica dos marcadores epigenéticos sirtuínas 1 a 7, Dnmt1, 3a, 3b, Tets 2 e Tet3 foram moduladas pela associação treinamento aeróbico de natação e dieta rica em carboidratos simples. Acredita-se que esta diferença na modificação da expressão gênica anterior ao estabelecimento de desordens no funcionamento renal pode ser importante na investigação de novos biomarcadores epigenéticos.

9. PERSPECTIVAS

- ❖ Repetir a quantificação da insulina sérica dos animais para confirmar se a dieta induziu resistência à insulina seguido dos testes índice de HOMA BETA e HOMA IR;
- ❖ Quantificar e analisar a metilação global do DNA no tecido renal;
- ❖ Quantificar proteínas carboniladas para avaliar danos do estresse oxidativo ao tecido renal;
- ❖ Avaliar possíveis alterações mitocondriais a partir de técnicas moleculares.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, Kristin A.; HUYNH, Frank K.; FISHER-WELLMAN, Kelsey; *et al.* SIRT4 Is a Lysine Deacylase that Controls Leucine Metabolism and Insulin Secretion. **Cell Metabolism**, v. 25, n. 4, p. 838-855.e15, 2017.

ANDRICH, David E.; MELBOUCI, Lilya; OU, Ya; *et al.* **Altered Feeding Behaviors and Adiposity Precede Observable Weight Gain in Young Rats Submitted to a Short-Term High-Fat Diet.** *Journal of Nutrition and Metabolism*. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jnme/2018/1498150/>>. Acesso em: 16 fev. 2019.

AU - RIEG, Timo. A High-throughput Method for Measurement of Glomerular Filtration Rate in Conscious Mice. **JoVE**, n. 75, p. e50330, 2013.

BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. **Journal of Internal Medicine**, v. 261, n. 5, p. 412–417, 2007.

BARRETO, Maria Lucia; NASCIMENTO, Elmiro Rosendo do; CAMPOS, Carlos Augusto de Martino; *et al.* Detection of Mycoplasma pulmonis in laboratory rats. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 260–264, 2002.

BASTARD, Jean-Philippe; MAACHI, Mustapha; LAGATHU, Claire; *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European Cytokine Network**, v. 17, n. 1, p. 4–12, 2006.

BASTOS, Marcus Gomes; BREGMAN, Rachel; KIRSZTAJN, Gianna Mastroianni. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 2, p. 248–253, 2010.

BATESON, Patrick; BARKER, David; CLUTTON-BROCK, Timothy; *et al.* Developmental plasticity and human health. **Nature**, v. 430, n. 6998, p. 419–421, 2004.

BATISTA, Maria Esilene Valença; DE LUCENA, Thaís Luckwü. PAPEL BIOLÓGICO DAS SIRTUÍNAS NO PROCESSO DE ENVELHECIMENTO HUMANO: MINI-REVISÃO. p. 6, .

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between “Lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **The Journal of Endocrinology**, v. 40, n. 4, p. 527–528, 1968.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; D’ANGELINO, J. L.; BENESI, F. J.; *et al.* Valores de referência do eritrograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 2, p. 1–9, 2001.

BISHOP, Karen S.; FERGUSON, Lynnette R. The Interaction between Epigenetics, Nutrition and the Development of Cancer. **Nutrients**, v. 7, n. 2, p. 922–947, 2015.

BLÜHER, Matthias. The distinction of metabolically “healthy” from “unhealthy” obese individuals. **Current Opinion in Lipidology**, v. 21, n. 1, p. 38–43, 2010.

BOBULESCU, Ion Alexandru. Renal lipid metabolism and lipotoxicity. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 19, n. 4, p. 393–402, 2010.

BOEHM, Olaf; ZUR, Berndt; KOCH, Alexander; *et al.* Clinical chemistry reference database for Wistar rats and C57/BL6 mice. **Biological Chemistry**, v. 388, n. 5, p. 547–554, 2007.

BÖHM, Joseane; MONTEIRO, Mariane Borba; THOMÉ, Fernando Saldanha. Effects of aerobic exercise during haemodialysis in patients with chronic renal disease: a literature review. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 34, n. 2, p. 189–194, 2012.

BRAND-MILLER, Janette C.; HOLT, Susanna HA; PAWLAK, Dorota B.; *et al.* Glycemic index and obesity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 1, p. 281S–285S, 2002.

BURTIS, C.; ASHWOOD, E.; BRUNS, D. E. **Tietz fundamentos de química clínica**. 6 ed. [s.l.: s.n.], 2008.

CHEN, Chun-Juan; FU, Yu-Cai; YU, Wei; *et al.* SIRT3 protects cardiomyocytes from oxidative stress-mediated cell death by activating NF- κ B. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 430, n. 2, p. 798–803, 2013.

CHEN, Zhouxun; LEI, Tingting; ZHENG, Linfeng; *et al.* SIRT4 protein levels are downregulated in kidney renal clear cell carcinoma. p. 8, .

CIOLAC, Emmanuel Gomes; GUIMARÃES, Guilherme Veiga. Physical exercise and metabolic syndrome. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 319–324, 2004.

COUTINHO, Walmir. Consenso latino-americano de obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 43, n. 1, p. 21–67, 1999.

CSIBI, Alfred; FENDT, Sarah-Maria; LI, Chenggang; *et al.* The mTORC1 pathway stimulates glutamine metabolism and cell proliferation by repressing SIRT4. **Cell**, v. 153, n. 4, p. 840–854, 2013.

DE BRITO OLIVEIRA COSTA, Everton; PACHECO, Cristiane. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 125, 2013.

DE QUEIROZ, Karina Barbosa; COIMBRA, Roney Santos; FERREIRA, Amanda Rios; *et al.* Molecular mechanism driving retroperitoneal adipocyte hypertrophy and

- hyperplasia in response to a high-sugar diet. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 58, n. 12, p. 2331–2341, 2014.
- DE QUEIROZ, Karina Barbosa; GUIMARÃES, Juliana Bohnen; COIMBRA, Cândido Celso; *et al.* Endurance Training Increases Leptin Expression in the Retroperitoneal Adipose Tissue of Rats Fed with a High-Sugar Diet. **Lipids**, v. 49, n. 1, p. 85–96, 2014.
- DIAS, Patricia Camacho; HENRIQUES, Patrícia; ANJOS, Luiz Antonio dos; *et al.* Obesidade e políticas públicas: concepções e estratégias adotadas pelo governo brasileiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, n. 7, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2017000705001&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 5 jan. 2019.
- DONMEZ, Gizem; OUTEIRO, Tiago F. SIRT1 and SIRT2: emerging targets in neurodegeneration. **EMBO Molecular Medicine**, v. 5, n. 3, p. 344–352, 2013.
- DREWNOWSKI, Adam; MENNELLA, Julie A.; JOHNSON, Susan L.; *et al.* Sweetness and food preference. **The Journal of Nutrition**, v. 142, n. 6, p. 1142S–8S, 2012.
- DUSSE, Luci; SOUSA, Letícia; MORAES, Rívia; *et al.* **Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente?** Revista RBAC. Disponível em: <<http://www.rbac.org.br/artigos/biomarcadores-da-funcao-renal-do-que-dispomos-atualmente/>>. Acesso em: 21 jan. 2019.
- EJERBLAD, Elisabeth; FORED, C. Michael; LINDBLAD, Per; *et al.* Obesity and risk for chronic renal failure. **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 17, n. 6, p. 1695–1702, 2006.
- ELLINGTON, Allison A.; MALIK, A. Rauoof; KLEE, George G.; *et al.* Association of plasma resistin with glomerular filtration rate and albuminuria in hypertensive adults. **Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)**, v. 50, n. 4, p. 708–714, 2007.
- FOLCH, Jordi; LEES, M.; STANLEY, G. H. Sloane. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.
- FUJITA, Hiroki; FUJISHIMA, Hiromi; CHIDA, Shinsuke; *et al.* Reduction of renal superoxide dismutase in progressive diabetic nephropathy. **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 20, n. 6, p. 1303–1313, 2009.
- FURUKAWA, Shigetada; FUJITA, Takuya; SHIMABUKURO, Michio; *et al.* Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 12, p. 1752–1761, 2004.
- GENARO, Patrícia de Souza; SARKIS, Karin Sedó; MARTINI, Ligia Araújo. Effect of caloric restriction on longevity. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 667–672, 2009.

GERTZ, Melanie; NGUYEN, Giang Thi Tuyet; FISCHER, Frank; *et al.* A Molecular Mechanism for Direct Sirtuin Activation by Resveratrol. **PLOS ONE**, v. 7, n. 11, p. e49761, 2012.

GIARDINA, Simona; HERNÁNDEZ-ALONSO, Pablo; SALAS-SALVADÓ, Jordi; *et al.* Modulation of Human Subcutaneous Adipose Tissue MicroRNA Profile Associated with Changes in Adiposity-Related Parameters. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 2, 2018.

GOLL, Mary Grace; BESTOR, Timothy H. Eukaryotic cytosine methyltransferases. **Annual Review of Biochemistry**, v. 74, p. 481–514, 2005.

GROVE, Kevin L.; GRAYSON, Bernadette E.; GLAVAS, Maria M.; *et al.* Development of metabolic systems. **Physiology & Behavior**, v. 86, n. 5, p. 646–660, 2005.

GUAN, Yi; HAO, Chuan-Ming. SIRT1 and Kidney Function. **Kidney Diseases**, v. 1, n. 4, p. 258–265, 2016.

GUIMARÃES-SOUZA, Nadia Karina; YAMALEYEVA, Liliya Marsovna; LU, Baisong; *et al.* Superoxide overproduction and kidney fibrosis: a new animal model. **Einstein (São Paulo)**, v. 13, n. 1, p. 79–88, 2015.

HALL, John E.; HENEGAR, Jeffrey R.; DWYER, Terry M.; *et al.* Is obesity a major cause of chronic kidney disease? **Advances in Renal Replacement Therapy**, v. 11, n. 1, p. 41–54, 2004.

HALL, Michael E; DO CARMO, Jussara M; DA SILVA, Alexandre A; *et al.* Obesity, hypertension, and chronic kidney disease. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, v. 7, p. 75–88, 2014.

ISEKI, Kunitoshi; IKEMIYA, Yoshiharu; KINJO, Kozen; *et al.* Body mass index and the risk of development of end-stage renal disease in a screened cohort. **Kidney International**, v. 65, n. 5, p. 1870–1876, 2004.

JANKE RYAN,; *; ANNE E. DODSON,; *et al.* **Metabolism and Epigenetics**. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-cellbio-100814-125544>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

JEONG, Seung Min; XIAO, Cuiying; FINLEY, Lydia W. S.; *et al.* SIRT4 has tumor-suppressive activity and regulates the cellular metabolic response to DNA damage by inhibiting mitochondrial glutamine metabolism. **Cancer Cell**, v. 23, n. 4, p. 450–463, 2013.

JOHANSEN, Kirsten L.; PAINTER, Patricia. Exercise in Individuals with CKD. **American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation**, v. 59, n. 1, p. 126–134, 2012.

KASPER, Philipp; VOHLEN, Christina; DINGER, Katharina; *et al.* Renal Metabolic Programming Is Linked to the Dynamic Regulation of a Leptin-Klf15 Axis and Akt/AMPK α Signaling in Male Offspring of Obese Dams. **Endocrinology**, v. 158, n. 10, p. 3399–3415, 2017.

KB QUEIROZ. Associação entre Dieta Hiperglicídica e Exercício. Físico Modifica o Metabolismo e a Expressão Gênica no Tecido Adiposo. 2010.

KHAWALI, Cristina; ANDRIOLO, Adagmar; FERREIRA, Sandra Roberta G. Benefícios da atividade física no perfil lipídico de pacientes com diabetes tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, n. 1, p. 49–54, 2003.

KING, Janet C. Maternal Obesity, Metabolism, and Pregnancy Outcomes. **Annual Review of Nutrition**, v. 26, n. 1, p. 271–291, 2006.

KNIGHT SARAH F.; QUIGLEY JEFFREY E.; YUAN JIANGHE; *et al.* Endothelial Dysfunction and the Development of Renal Injury in Spontaneously Hypertensive Rats Fed a High-Fat Diet. **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 352–359, 2008.

KOVESDY, Csaba P.; FURTH, Susan L.; ZOCCALI, Carmine. Obesity and kidney disease: hidden consequences of the epidemic. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 39, n. 1, 2017. Disponível em: <<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0101-2800.20170001>>. Acesso em: 13 fev. 2019.

KUME, Shinji; UZU, Takashi; ARAKI, Shin-ichi; *et al.* Role of Altered Renal Lipid Metabolism in the Development of Renal Injury Induced by a High-Fat Diet. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, n. 10, p. 2715–2723, 2007.

LEE, Ho-Sun. Impact of Maternal Diet on the Epigenome during In Utero Life and the Developmental Programming of Diseases in Childhood and Adulthood. **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 9492–9507, 2015.

LI, Yuanyuan; SALDANHA, Sabita N.; TOLLEFSBOL, Trygve O. Impact of Epigenetic Dietary Compounds on Transgenerational Prevention of Human Diseases. **The AAPS Journal**, v. 16, n. 1, p. 27–36, 2013.

LIMA, C.M.; MELO, M.G.D.; DÓRIA, A.A.; *et al.* Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes.

LUVIZOTTO, Renata de Azevedo Melo; NASCIMENTO, Andre F.; IMAIZUMI, Erika; *et al.* Lycopene supplementation modulates plasma concentrations and epididymal adipose tissue mRNA of leptin, resistin and IL-6 in diet-induced obese rats. **The British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 10, p. 1803–1809, 2013.

- MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, 1985.
- MELO, M G D; DÓRIA, G A A; SERAFINI, M R; *et al.* Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**, p. 6, 2012.
- MERCADO, Adriana; MELO, Zesergio; TOVAR, Armando; *et al.* The K⁺:Cl⁻ Cotransporter KCC4 is Activated by Deacetylation Induced by the Sirtuin7 (SIRT7). **The FASEB Journal**, v. 29, n. 1_supplement, p. 666.24, 2015.
- MICHISHITA, Eriko; PARK, Jean Y.; BURNESKIS, Jenna M.; *et al.* Evolutionarily Conserved and Nonconserved Cellular Localizations and Functions of Human SIRT Proteins. **Molecular Biology of the Cell**, v. 16, n. 10, p. 4623–4635, 2005.
- MOORE, KEITH L. ET AL. **Embriologia clínica**, 2016.
- MORIGI, Marina; PERICO, Luca; ROTA, Cinzia; *et al.* Sirtuin 3–dependent mitochondrial dynamic improvements protect against acute kidney injury. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 2, p. 715–726, 2015.
- MOSS, Timothy J.; WALLRATH, Lori L. Connections between epigenetic gene silencing and human disease. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 618, n. 1, p. 163–174, 2007. (Chromatin: Repair, Remodeling and Regulation).
- NISHIDA, Chizuru; UAUY, Ricardo; KUMANYIKA, Shiriki; *et al.* The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. **Public Health Nutrition**, v. 7, n. 1a, p. 245–250, 2004.
- NISHIDA, Yuya; RARDIN, Matthew J.; CARRICO, Chris; *et al.* SIRT5 Regulates both Cytosolic and Mitochondrial Protein Malonylation with Glycolysis as a Major Target. **Molecular Cell**, v. 59, n. 2, p. 321–332, 2015.
- NOGUEIRA-PAIVA, Nívia Carolina; FONSECA, Kátia da Silva; VIEIRA, Paula Melo de Abreu; *et al.* Myenteric plexus is differentially affected by infection with distinct *Trypanosoma cruzi* strains in Beagle dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 1, p. 51–60, 2014.
- OGURA, Yoshio; KITADA, Munehiro; MONNO, Itaru; *et al.* Renal mitochondrial oxidative stress is enhanced by the reduction of Sirt3 activity, in Zucker diabetic fatty rats. **Redox Report: Communications in Free Radical Research**, v. 23, n. 1, p. 153–159, 2018.

OKANO, M.; XIE, S.; LI, E. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases. **Nature Genetics**, v. 19, n. 3, p. 219–220, 1998.

OLIVEIRA, Joice Barbosa; MENDES, Ane Emanuelle Queiroga; FARIA, Ana Luiza Gonçalves; *et al.* COMPARAÇÃO ENTRE CREATININA E CISTATINA C PARA AVALIAÇÃO DE FUNÇÃO RENAL. **CIPEEX**, p. 1221–1222, 2019.

ONG, Thomas Prates; MORENO, Fernando Salvador; ROSS, Sharon Ann. Targeting the epigenome with bioactive food components for cancer prevention. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 4, n. 5, p. 275–292, 2011.

OTERDOOM, Leendert H.; DE VRIES, Aiko P. J.; GANSEVOORT, Ron T.; *et al.* Fasting insulin modifies the relation between age and renal function. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 22, n. 6, p. 1587–1592, 2007.

PENG, Yongdong; YU, Shulong; LI, Huanan; *et al.* MicroRNAs: Emerging roles in adipogenesis and obesity. **Cellular Signalling**, v. 26, n. 9, p. 1888–1896, 2014.

PERERA, Thanusha; RANASINGHE, Shirani; ALLES, Neil; *et al.* Effect of fluoride on major organs with the different time of exposure in rats. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 23, n. 1, p. 17, 2018.

PINTO, Bruno Araújo Serra; MELO, Thamys Marinho; FLISTER, Karla Frida Torres; *et al.* Early and sustained exposure to high-sucrose diet triggers hippocampal ER stress in young rats. **Metabolic Brain Disease**, v. 31, n. 4, p. 917–927, 2016.

PINTO-SIETSMA, Sara-Joan; NAVIS, Gerjan; JANSSEN, Wilbert M. T.; *et al.* A central body fat distribution is related to renal function impairment, even in lean subjects. **American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation**, v. 41, n. 4, p. 733–741, 2003.

PONNUSAMY, Murugavel; ZHOU, Xiaoxu; YAN, Yanli; *et al.* Blocking Sirtuin 1 and 2 Inhibits Renal Interstitial Fibroblast Activation and Attenuates Renal Interstitial Fibrosis in Obstructive Nephropathy. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 350, n. 2, p. 243–256, 2014.

POSTORINO, Maurizio; MARINO, Carmen; TRIPEPI, Giovanni; *et al.* Abdominal Obesity and All-Cause and Cardiovascular Mortality in End-Stage Renal Disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 15, p. 1265–1272, 2009.

POTTHAST, Arne Björn; HEUER, Theresa; WARNEKE, Simone Johanna; *et al.* Alterations of sirtuins in mitochondrial cytochrome c-oxidase deficiency. **PLOS ONE**, v. 12, n. 10, p. e0186517, 2017.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. **Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho**. 2 ed. [s.l.: s.n.], 2000.

QUEIROZ, Karina Barbosa de; HONORATO-SAMPAIO, Kinulpe; JÚNIOR, Joamyr Victor Rossoni; *et al.* Physical activity prevents alterations in mitochondrial ultrastructure and glucometabolic parameters in a high-sugar diet model. **PLOS ONE**, v. 12, n. 2, p. e0172103, 2017.

RIBEIRO, A.P.A.F. Adaptações renais induzidas pelo treinamento aeróbico em ratos normais em repouso e sob o efeito de exercícios. 2009.

RUAN, Xiong Z.; VARGHESE, Zac; MOORHEAD, John F. An update on the lipid nephrotoxicity hypothesis. **Nature Reviews. Nephrology**, v. 5, n. 12, p. 713–721, 2009.

SAKHAEE, Khashayar. Recent advances in the pathophysiology of nephrolithiasis. **Kidney international**, v. 75, n. 6, p. 585–595, 2009.

SANTOS, Talita. Epigenética no tecido adiposo retroperitoneal de ratos: foco em metilação de DNA e expressão de sirtuínas. 2018.

SANTOS, T.A.P.D. Efeito Temporal da Dieta Rica em Carboidratos Simples e do Treinamento Físico de Natação Sobre Modificações Epigenéticas e Expressão de Sirtuínas no Tecido Adiposo de Ratos. 2108.

SARTORELLI, Daniela S.; CARDOSO, Marly A. Association between dietary carbohydrates and type 2 diabetes mellitus: epidemiological evidences. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 3, p. 415–426, 2006.

SAUVE, Anthony A.; WOLBERGER, Cynthia; SCHRAMM, Vern L.; *et al.* The Biochemistry of Sirtuins. **Annual Review of Biochemistry**, v. 75, n. 1, p. 435–465, 2006.

SETHI, Jaswinder K.; VIDAL-PUIG, Antonio. Visfatin: the missing link between intra-abdominal obesity and diabetes? **Trends in Molecular Medicine**, v. 11, n. 8, p. 344–347, 2005.

SHARMA, Kumar. The link between obesity and albuminuria: adiponectin and podocyte dysfunction. **Kidney International**, v. 76, n. 2, p. 145–148, 2009.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, n. 2, p. 291–295, 1997.

SILVA, Rafael de Assis da; KANAAN, Salim; SILVA, Licínio Esmeraldo da; *et al.* Estudo do perfil lipídico em crianças e jovens do ambulatório pediátrico do Hospital Universitário Antônio Pedro associado ao risco de dislipidemias. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 2, p. 95–101, 2007.

SILVA JUNIOR, Geraldo Bezerra da; BENTES, Ana Carla Sobral Novaes; DAHER, Elizabeth De Francesco; *et al.* Obesity and kidney disease. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 39, n. 1, 2017. Disponível em:

<<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0101-2800.20170011>>. Acesso em: 4 jan. 2019.

SOUSA, Rosângela Maria Lopes; RIBEIRO, Nathalee Liberal Xavier; PINTO, Bruno Araújo Serra; *et al.* Long-term high-protein diet intake reverts weight gain and attenuates metabolic dysfunction on high-sucrose-fed adult rats. **Nutrition & Metabolism**, v. 15, p. 53, 2018.

SULLIVAN, Elinor L.; SMITH, M. Susan; GROVE, Kevin L. Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood. **Neuroendocrinology**, v. 93, n. 1, p. 1–8, 2011.

TANG, Chengyuan; DONG, Zheng. Mitochondria in Kidney Injury: When the Power Plant Fails. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 27, n. 7, p. 1869–1872, 2016.

THOLE, A. A.; RODRIGUES-CUNHA, A. C. S.; CARVALHO, S. N.; *et al.* Progenitor cells and TNF-alpha involvement during morphological changes in pancreatic islets of obese mice. **Tissue and Cell**, v. 44, n. 4, p. 238–248, 2012.

TUREK-PLEWA, Justyna; JAGODZIŃSKI, Paweł P. The role of mammalian DNA methyltransferases in the regulation of gene expression. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 10, n. 4, p. 631–647, 2005.

VAISY, Morad; SZLUFCHIK, Karolina; MARIS, Michael; *et al.* Hyperglycemic diet and training alter insulin sensitivity, intramyocellular lipid content but not UCP3 protein expression in rat skeletal muscles. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 25, n. 6, p. 905–913, 2010.

VAN HERPEN, N. A.; SCHRAUWEN-HINDERLING, V. B. Lipid accumulation in non-adipose tissue and lipotoxicity. **Physiology & Behavior**, v. 94, n. 2, p. 231–241, 2008.

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima; GOULART, Marília Oliveira Fonseca; MOURA, José Benedito de França; *et al.* Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: main analytical methods for their determination. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323–1338, 2007.

VIDA, Margarita; RIVERA, Patricia; GAVITO, Ana Luisa; *et al.* CB1 blockade potentiates down-regulation of lipogenic gene expression in perirenal adipose tissue in high carbohydrate diet-induced obesity. **PloS One**, v. 9, n. 2, p. e90016, 2014.

WAKINO, Shu; HASEGAWA, Kazuhiro; ITOH, Hiroshi. Sirtuin and metabolic kidney disease. **Kidney International**, v. 88, n. 4, p. 691–698, 2015.

WALDMAN, Hunter S.; KRINGS, Benjamin M.; SMITH, JohnEric W.; *et al.* A shift toward a high-fat diet in the current metabolic paradigm: A new perspective. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 46, p. 33–35, 2018.

WATERLAND, Robert A.; GARZA, Cutberto. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 179–197, 1999.

WHEELER, David C.; BERNARD, David B. Lipid Abnormalities in the Nephrotic Syndrome: Causes, Consequences, and Treatment. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 23, n. 3, p. 331–346, 1994.

WOLF, Gunter; ZIYADEH, Fuad N. Leptin and renal fibrosis. **Contributions to Nephrology**, v. 151, p. 175–183, 2006.

XAVIER, H. T.; IZAR, M. C.; FARIA NETO, J. R.; *et al.* V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 1–20, 2013.

XAVIER, J. L. P.; SCOMPARIN, D. X.; RIBEIRO, P. R.; *et al.* METABOLIC IMPRINTING: CAUSES AND CONSEQUENCES. **Visão Acadêmica**, v. 16, n. 4, 2016. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/44138>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

YE, Xin; LI, Meiting; HOU, Tianyun; *et al.* Sirtuins in glucose and lipid metabolism. **Oncotarget**, v. 8, n. 1, p. 1845–1859, 2016.

YOSHIZAWA, Tatsuya; KARIM, Md Fazlul; SATO, Yoshifumi; *et al.* SIRT7 controls hepatic lipid metabolism by regulating the ubiquitin-proteasome pathway. **Cell Metabolism**, v. 19, n. 4, p. 712–721, 2014.

ZHAN, Ming; BROOKS, Craig; LIU, Fuyou; *et al.* Mitochondrial dynamics: regulatory mechanisms and emerging role in renal pathophysiology. **Kidney International**, v. 83, n. 4, p. 568–581, 2013.

ZHANG, Mengli; WU, Jian; SUN, Renqiang; *et al.* SIRT5 deficiency suppresses mitochondrial ATP production and promotes AMPK activation in response to energy stress. **PLOS ONE**, v. 14, n. 2, p. e0211796, 2019.

Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/106/5955b4c39c7ab.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2019.

Development of a Brief Measure to Assess Quality of Life in Obesity - Kolotkin - 2001 - Obesity Research - Wiley Online Library. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1038/oby.2001.13>>. Acesso em: 21 fev. 2019.

Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of renal diseases | American Journal of Physiology-Renal Physiology. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/ajprenal.00571.2013>>. Acesso em: 28 fev. 2019.

Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood. - PubMed - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21079387>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

Physical activity prevents alterations in mitochondrial ultrastructure and glucometabolic parameters in a high-sugar diet model. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0172103>>. Acesso em: 3 jan. 2019.

Role of Insulin Resistance in Human Disease | Diabetes. Disponível em: <<http://diabetes.diabetesjournals.org/content/37/12/1595.short>>. Acesso em: 14 fev. 2019.

SIRT5 Deacetylates carbamoyl phosphate synthetase 1 and regulates the urea cycle. - PubMed - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19410549>>. Acesso em: 7 fev. 2019.

Sirt5 Plays a Critical Role in Mitochondrial Protein Acylation and Mitochondrial Metabolic Homeostasis in Brown Fat | Diabetes. Disponível em: <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/67/Supplement_1/274-OR>. Acesso em: 28 fev. 2019.

Standardization of renal function evaluation in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) from the Federal University of Juiz de Fora's colony. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 36, n. 2, p. 139–149, 2014.

Vascular stiffness in insulin resistance and obesity. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4536384/>>. Acesso em: 23 fev. 2019.

WHO | Obesity and other diet-related chronic diseases list of publications. WHO. Disponível em: <<https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/en/>>. Acesso em: 21 fev. 2019.

WHO :: Global Database on Body Mass Index. Disponível em: <http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html>. Acesso em: 14 fev. 2019.

11. ANEXOS

11.1. Anexo: Laudo de análise 07945/2018



PRC: 279.01/12

Hidrocepe - Serviços de Qualidade Ltda

Página 1 de 1

LAUDO DE ANÁLISE - 07945/2018

DADOS DO CLIENTE

Cliente: RENATA GUERRA DE SÁ
Endereço: Rua Professor Moacir Lisboa - Bairro Jardim Alvorada
Cidade: Ouro Preto Estado: MG CEP: 35.400-000 Telefone: (31) 99559-1992
CNPJ/CPF: 135.747.188-29 E-mail: deborah_fia@hotmail.com

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra: Ração - Dieta Rica em Carboidratos 01
Data Entrada: 26/07/2018 Coletor: Cliente
Solicitante: Deborah Campos Oliveira Lote: ---
Local de Coleta: --- Data / Hora Coleta: ---
Fabricação: --- Validade: ---
Lacre: --- Temp. Amostra: ---

RESULTADOS ANALÍTICOS

LABORATORIO: ANALISE FISICO-QUIMICAS

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADO	VMP	L.Q.	METODOLOGIA
Calorias	Kcal/100 g	271,41	Não consta	-	Revista Química Nova 2008 (1)
Carboidratos	g/100g	52,48	Não consta	-	Lanagro n°34 (2)
Cinzas	g/100g	3,70	Não consta	0,19	IAL 018/IV (3)
Fibra bruta	g/100g	4,2	Não consta	0,37	IAL 044/IV (3)
Fibra detergente neutro FDN	g/100g	8,33	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Fibra detergente ácido FDA	g/100g	3,00	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Gordura Total	g/100g	1,13	Não consta	0,18	LANARA (5)
Lípidios	g/100g	1,13	Não consta	-	IAL 032/IV (3)
Proteína	g/100g	12,83	Não consta	0,22	IAL 036/IV (3)
Umidade	g/100g	25,66	Não consta	0,02	IAL 012/IV (3)

Legendas

(1): gravimetria; (2): Portaria n° 108 de 04 de Setembro de 1991 do MARA. Publicado no DOU 17 de Setembro de 1991; (3): Métodos físico-químicos para análise de alimentos - Instituto Adolfo Lutz IV edição; (4): Análise de Alimentos. Métodos Químicos e Biológicos. UFV 2002; (5): Portaria n° 001 de 07 de Outubro de 1981 MAPA; POP - Procedimento Operacional Padrão (As análises que foram realizadas através de POP's foram validadas pelo Laboratório) para análise de alimentos; LQ - Limite de Quantificação; NC - Não consta; ND - Não detectado; NMP - Número mais provável; UFC - Unidade formadora de colônia; VMP - Valor máximo permitido; Não detectado : < limite de quantificação.

Observações

- As incertezas serão disponibilizadas pelo laboratório a pedido do cliente.

Obs. Resultado

Legislação não pertinente.

Abrangência

Os resultados expressos neste laudo referem-se somente ao material recebido.

Plano de Amostragem

Plano de amostragem de responsabilidade do interessado ou Manual de Coleta da Hidrocepe - Versão 11.

Data de Realização das Análises

O Hidrocepe garante que as análises foram executadas dentro do prazo de validade de cada parâmetro segundo manual de coleta, quando todo o processo analítico (coleta e análise) é de responsabilidade da Hidrocepe. Quando a coleta é de responsabilidade do interessado, caso haja algum desvio, o cliente é previamente consultado para continuação das análises.

Data: 05/09/2018

Jorge Barquete CRF 6-2090

Rita de Cássia Dionísio da Silva CRQ 02404597

11.2. Anexo: Laudo de análise 07946/2018



PRC: 279.01/12

Hidrocepe - Serviços de Qualidade Ltda

Página 1 de 1

LAUDO DE ANÁLISE - 07946/2018

DADOS DO CLIENTE

Cliente: RENATA GUERRA DE SÁ
Endereço: Rua Professor Moacir Lisboa - Bairro Jardim Alvorada
Cidade: Ouro Preto Estado: MG CEP: 35.400-000 Telefone: (31) 99559-1992
CNPJ/CPF: 135.747.188-29 E-mail: deborah_fia@hotmail.com

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra: Ração - Dieta Rica em Carboidratos 02
Data Entrada: 26/07/2018 Coletor: Cliente
Solicitante: Deborah Campos Oliveira Lote: ---
Local de Coleta: --- Data / Hora Coleta: ---
Fabricação: --- Validade: ---
Lacre: --- Temp. Amostra: ---

RESULTADOS ANALÍTICOS

LABORATORIO: ANALISE FISICO-QUIMICAS

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADO	VMP	L.Q.	METODOLOGIA
Calorias	Kcal/100 g	267,55	Não consta	-	Revista Química Nova 2008 (1)
Carboidratos	g/100g	51,89	Não consta	-	Lanagro n°34 (2)
Cinzas	g/100g	3,57	Não consta	0,19	IAL 018/IV (3)
Fibra bruta	g/100g	5,15	Não consta	0,37	IAL 044/IV (3)
Fibra detergente neutro FDN	g/100g	8,58	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Fibra detergente ácido FDA	g/100g	2,99	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Gordura Total	g/100g	1,03	Não consta	0,18	LANARA (5)
Lípidios	g/100g	1,03	Não consta	-	IAL 032/IV (3)
Proteína	g/100g	12,68	Não consta	0,22	IAL 036/IV (3)
Umidade	g/100g	25,68	Não consta	0,02	IAL 012/IV (3)

Legendas

(1): gravimetria;(2): Portaria n° 108 de 04 de Setembro de 1991 do MARA. Publicado no DOU 17 de Setembro de 1991.;(3): Métodos físico-químicos para análise de alimentos - Instituto Adolfo Lutz IV edição.;(4): Análise de Alimentos. Métodos Químicos e Biológicos. UFV 2002.;(5): Portaria n°001 de 07 de Outubro de 1981 MAPA;POP - Procedimento Operacional Padrão (As análises que foram realizadas através de POP's foram validadas pelo Laboratório) para análise de alimentos; LQ - Limite de Quantificação; NC - Não consta; ND - Não detectado; NMP - Número mais provável; UFC - Unidade formadora de colônia; VMP - Valor máximo permitido; Não detectado : < limite de quantificação.

Observações

- As incertezas serão disponibilizadas pelo laboratório a pedido do cliente.

Obs. Resultado

Legislação não pertinente.

Abrangência

Os resultados expressos neste laudo referem-se somente ao material recebido.

Plano de Amostragem

Plano de amostragem de responsabilidade do interessado ou Manual de Coleta da Hidrocepe - Versão 11.

Data de Realização das Análises

O Hidrocepe garante que as análises foram executadas dentro do prazo de validade de cada parâmetro segundo manual de coleta, quando todo o processo analítico (coleta e análise) é de responsabilidade da Hidrocepe. Quando a coleta é de responsabilidade do interessado, caso haja algum desvio, o cliente é previamente consultado para continuação das análises.

Data: 05/09/2018

Jorge Barquete CRF 6-2090

Rita de Cássia Dionísio da Silva CRQ 02404597

11.3. Anexo: Laudo de análise 07947/2018



PRC: 279.01/12

Hidrocepe - Serviços de Qualidade Ltda

Página 1 de 1

LAUDO DE ANÁLISE - 07947/2018

DADOS DO CLIENTE

Cliente: RENATA GUERRA DE SÁ
Endereço: Rua Professor Moacir Lisboa - Bairro Jardim Alvorada
Cidade: Ouro Preto Estado: MG CEP: 35.400-000 Telefone: (31) 99559-1992
CNPJ/CPF: 135.747.188-29 E-mail: deborah_fia@hotmail.com

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra: Ração - Dieta Rica em Carboidratos 03
Data Entrada: 26/07/2018 Coletor: Cliente
Solicitante: Deborah Campos Oliveira Lote: ---
Local de Coleta: --- Data / Hora Coleta: ---
Fabricação: --- Validade: ---
Lacre: --- Temp. Amostra: ---

RESULTADOS ANALÍTICOS

LABORATORIO: ANALISE FISICO-QUIMICAS

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADO	VMP	L.Q.	METODOLOGIA
Calorias	Kcal/100 g	263,67	Não consta	-	Revista Química Nova 2008 (1)
Carboidratos	g/100g	50,51	Não consta	-	Lanagro n°34 (2)
Cinzas	g/100g	3,61	Não consta	0,19	IAL 018/IV (3)
Fibra bruta	g/100g	5,88	Não consta	0,37	IAL 044/IV (3)
Fibra detergente neutro FDN	g/100g	9,2*	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Fibra detergente ácido FDA	g/100g	2,6	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Gordura Total	g/100g	1,11	Não consta	0,18	LANARA (5)
Lípidios	g/100g	1,11	Não consta	-	IAL 032/IV (3)
Proteína	g/100g	12,91	Não consta	0,22	IAL 036/IV (3)
Umidade	g/100g	25,98	Não consta	0,02	IAL 012/IV (3)

Legendas

(1): gravimetria;(2): Portaria n° 108 de 04 de Setembro de 1991 do MARA. Publicado no DOU 17 de Setembro de 1991.;(3): Métodos físico-químicos para análise de alimentos - Instituto Adolfo Lutz IV edição.;(4): Análise de Alimentos. Métodos Químicos e Biológicos. UFV 2002.;(5): Portaria n°001 de 07 de Outubro de 1981 MAPA;POP - Procedimento Operacional Padrão (As análises que foram realizadas através de POP's foram validadas pelo Laboratório) para análise de alimentos; LQ - Limite de Quantificação; NC - Não consta; ND - Não detectado; NMP - Número mais provável; UFC - Unidade formadora de colônia; VMP - Valor máximo permitido; Não detectado : < limite de quantificação.

Observações

- As incertezas serão disponibilizadas pelo laboratório a pedido do cliente.

Obs. Resultado

Legislação não pertinente.

(*) amostra apresenta grande variação entre resultados e muita dificuldade no processo de filtração.

Abrangência

Os resultados expressos neste laudo referem-se somente ao material recebido.

Plano de Amostragem

Plano de amostragem de responsabilidade do interessado ou Manual de Coleta da Hidrocepe - Versão 11.

Data de Realização das Análises

O Hidrocepe garante que as análises foram executadas dentro do prazo de validade de cada parâmetro segundo manual de coleta, quando todo o processo analítico (coleta e análise) é de responsabilidade da Hidrocepe. Quando a coleta é de responsabilidade do interessado, caso haja algum desvio, o cliente é previamente consultado para continuação das análises.

Data: 05/09/2018

Jorge Barquete CRF 6-2090

Rita de Cássia Dionísio da Silva CRQ 02404597

11.4. Anexo: Laudo de análise 07948/2018



PRC: 279.01/12

Hidrocepe - Serviços de Qualidade Ltda

Página 1 de 1

LAUDO DE ANÁLISE - 07948/2018

DADOS DO CLIENTE

Cliente: RENATA GUERRA DE SÁ
Endereço: Rua Professor Moacir Lisboa - Bairro Jardim Alvorada
Cidade: Ouro Preto Estado: MG CEP: 35.400-000 Telefone: (31) 99559-1992
CNPJ/CPF: 135.747.188-29 E-mail: deborah_fia@hotmail.com

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra: Ração - Dieta Controle 01
Data Entrada: 26/07/2018 Coletor: Cliente
Solicitante: Deborah Campos Oliveira Lote: ---
Local de Coleta: --- Data / Hora Coleta: ---
Fabricação: --- Validade: ---
Lacre: --- Temp. Amostra: ---

RESULTADOS ANALÍTICOS

LABORATORIO: ANALISE FISICO-QUIMICAS

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADO	VMP	L.Q.	METODOLOGIA
Calorias	Kcal/100 g	304,90	Não consta	-	Revista Química Nova 2008 (1)
Carboidratos	g/100g	41,56	Não consta	-	Lanagro n°34 (2)
Cinzas	g/100g	6,91	Não consta	0,19	IAL 018/IV (3)
Fibra bruta	g/100g	12,35	Não consta	0,37	IAL 044/IV (3)
Fibra detergente neutro FDN	g/100g	19,6*	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Fibra detergente ácido FDA	g/100g	7,17	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Gordura Total	g/100g	5,06	Não consta	0,18	LANARA (5)
Lípidios	g/100g	5,06	Não consta	-	IAL 032/IV (3)
Proteína	g/100g	23,28	Não consta	0,22	IAL 036/IV (3)
Umidade	g/100g	10,84	Não consta	0,02	IAL 012/IV (3)

Legendas

(1): gravimetria;(2): Portaria n° 108 de 04 de Setembro de 1991 do MARA. Publicado no DOU 17 de Setembro de 1991.:(3): Métodos físico-químicos para análise de alimentos - Instituto Adolfo Lutz IV edição.:(4): Análise de Alimentos. Métodos Químicos e Biológicos. UFV 2002.:(5): Portaria n°001 de 07 de Outubro de 1981 MAPA;POP - Procedimento Operacional Padrão (As análises que foram realizadas através de POP's foram validadas pelo Laboratório) para análise de alimentos; LQ - Limite de Quantificação; NC - Não consta; ND - Não detectado; NMP - Número mais provável; UFC - Unidade formadora de colônia; VMP - Valor máximo permitido; Não detectado : < limite de quantificação.

Observações

- As incertezas serão disponibilizadas pelo laboratório a pedido do cliente.

Obs. Resultado

Legislação não pertinente.

(*) amostra apresenta grande variação entre resultados e muita dificuldade no processo de filtração.

Abrangência

Os resultados expressos neste laudo referem-se somente ao material recebido.

Plano de Amostragem

Plano de amostragem de responsabilidade do interessado ou Manual de Coleta da Hidrocepe - Versão 11.

Data de Realização das Análises

O Hidrocepe garante que as análises foram executadas dentro do prazo de validade de cada parâmetro segundo manual de coleta, quando todo o processo analítico (coleta e análise) é de responsabilidade da Hidrocepe. Quando a coleta é de responsabilidade do interessado, caso haja algum desvio, o cliente é previamente consultado para continuação das análises.

Data: 05/09/2018

Jorge Barquete CRF 6-2090

Rita de Cássia Dionísio da Silva CRQ 02404597

11.5. Anexo: Laudo de análise 07949/2018



PRC: 279.01/12

Hidrocepe - Serviços de Qualidade Ltda

Página 1 de 1

LAUDO DE ANÁLISE - 07949/2018

DADOS DO CLIENTE

Cliente: RENATA GUERRA DE SÁ
Endereço: Rua Professor Moacir Lisboa - Bairro Jardim Alvorada
Cidade: Ouro Preto Estado: MG CEP: 35.400-000 Telefone: (31) 99559-1992
CNPJ/CPF: 135.747.188-29 E-mail: deborah_fia@hotmail.com

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra: Ração - Dieta Controle 02
Data Entrada: 26/07/2018 Coletor: Cliente
Solicitante: Deborah Campos Oliveira Lote: ---
Local de Coleta: --- Data / Hora Coleta: ---
Fabricação: --- Validade: ---
Lacre: --- Temp. Amostra: ---

RESULTADOS ANALITICOS

LABORATORIO: ANALISE FISICO-QUIMICAS

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADO	VMP	L.Q.	METODOLOGIA
Calorias	Kcal/100 g	311,95	Não consta	-	Revista Química Nova 2008 (1)
Carboidratos	g/100g	45,99	Não consta	-	Lanagro n°34 (2)
Cinzas	g/100g	6,10	Não consta	0,19	IAL 018/IV (3)
Fibra bruta	g/100g	11,26	Não consta	0,37	IAL 044/IV (3)
Fibra detergente neutro FDN	g/100g	16,78*	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Fibra detergente ácido FDA	g/100g	8,74	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Gordura Total	g/100g	5,07	Não consta	0,18	LANARA (5)
Lípidios	g/100g	5,07	Não consta	-	IAL 032/IV (3)
Proteína	g/100g	20,59	Não consta	0,22	IAL 036/IV (3)
Umidade	g/100g	10,99	Não consta	0,02	IAL 012/IV (3)

Legendas

(1): gravimetria;(2): Portaria n° 108 de 04 de Setembro de 1991 do MARA. Publicado no DOU 17 de Setembro de 1991.:(3): Métodos físico-químicos para análise de alimentos - Instituto Adolfo Lutz IV edição.:(4): Análise de Alimentos. Métodos Químicos e Biológicos. UFV 2002.:(5): Portaria n°001 de 07 de Outubro de 1981 MAPA;POP - Procedimento Operacional Padrão (As análises que foram realizadas através de POP's foram validadas pelo Laboratório) para análise de alimentos; LQ - Limite de Quantificação; NC - Não consta; ND - Não detectado; NMP - Número mais provável; UFC - Unidade formadora de colônia; VMP - Valor máximo permitido; Não detectado : < limite de quantificação.

Observações

- As incertezas serão disponibilizadas pelo laboratório a pedido do cliente.

Obs. Resultado

Legislação não pertinente.

(*) amostra apresenta grande variação entre resultados e muita dificuldade no processo de filtração.

Abrangência

Os resultados expressos neste laudo referem-se somente ao material recebido.

Plano de Amostragem

Plano de amostragem de responsabilidade do interessado ou Manual de Coleta da Hidrocepe - Versão 11.

Data de Realização das Análises

O Hidrocepe garante que as análises foram executadas dentro do prazo de validade de cada parâmetro segundo manual de coleta, quando todo o processo analítico (coleta e análise) é de responsabilidade da Hidrocepe. Quando a coleta é de responsabilidade do interessado, caso haja algum desvio, o cliente é previamente consultado para continuação das análises.

Data: 05/09/2018

Jorge Barquete CRF 6-2090

Rita de Cássia Dionísio da Silva CRQ 02404597

11.6. Anexo: Laudo de análise 07950/2018



PRC: 279.01/12

Hidrocepe - Serviços de Qualidade Ltda

Página 1 de 1

LAUDO DE ANÁLISE - 07950/2018

DADOS DO CLIENTE

Cliente: RENATA GUERRA DE SÁ
Endereço: Rua Professor Moacir Lisboa - Bairro Jardim Alvorada
Cidade: Ouro Preto Estado: MG CEP: 35.400-000 Telefone: (31) 99559-1992
CNPJ/CPF: 135.747.188-29 E-mail: deborah_fia@hotmail.com

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra: Ração - Dieta Controle 03
Data Entrada: 26/07/2018 Coletor: Cliente
Solicitante: Deborah Campos Oliveira Lote: ---
Local de Coleta: --- Data / Hora Coleta: ---
Fabricação: --- Validade: ---
Lacre: --- Temp. Amostra: ---

RESULTADOS ANALÍTICOS

LABORATORIO: ANALISE FISICO-QUIMICAS

PARÂMETROS	UNIDADE	RESULTADO	VMP	L.Q.	METODOLOGIA
Calorias	Kcal/100 g	308,68	Não consta	-	Revista Química Nova 2008 (1)
Carboidratos	g/100g	44,70	Não consta	-	Lanagro n°34 (2)
Cinzas	g/100g	7,61	Não consta	0,19	IAL 018/IV (3)
Fibra bruta	g/100g	10,67	Não consta	0,37	IAL 044/IV (3)
Fibra detergente neutro FDN	g/100g	17,16*	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Fibra detergente ácido FDA	g/100g	7,55	Não consta	-	Gravimétrico (4)
Gordura Total	g/100g	5,04	Não consta	0,18	LANARA (5)
Lípidios	g/100g	5,04	Não consta	-	IAL 032/IV (3)
Proteína	g/100g	21,13	Não consta	0,22	IAL 036/IV (3)
Umidade	g/100g	10,85	Não consta	0,02	IAL 012/IV (3)

Legendas

(1): gravimetria;(2): Portaria n° 108 de 04 de Setembro de 1991 do MARA. Publicado no DOU 17 de Setembro de 1991.:(3): Métodos físico-químicos para análise de alimentos - Instituto Adolfo Lutz IV edição.:(4): Análise de Alimentos. Métodos Químicos e Biológicos. UFV 2002.:(5): Portaria n°001 de 07 de Outubro de 1981 MAPA;POP - Procedimento Operacional Padrão (As análises que foram realizadas através de POP's foram validadas pelo Laboratório) para análise de alimentos; LQ - Limite de Quantificação; NC - Não consta; ND - Não detectado; NMP - Número mais provável; UFC - Unidade formadora de colônia; VMP - Valor máximo permitido; Não detectado : < limite de quantificação.

Observações

- As incertezas serão disponibilizadas pelo laboratório a pedido do cliente.

Obs. Resultado

Legislação não pertinente.

(*) amostra apresenta grande variação entre resultados e muita dificuldade no processo de filtração.

Abrangência

Os resultados expressos neste laudo referem-se somente ao material recebido.

Plano de Amostragem

Plano de amostragem de responsabilidade do interessado ou Manual de Coleta da Hidrocepe - Versão 11.

Data de Realização das Análises

O Hidrocepe garante que as análises foram executadas dentro do prazo de validade de cada parâmetro segundo manual de coleta, quando todo o processo analítico (coleta e análise) é de responsabilidade da Hidrocepe. Quando a coleta é de responsabilidade do interessado, caso haja algum desvio, o cliente é previamente consultado para continuação das análises.

Data: 05/09/2018

Jorge Barquete CRF 6-2090

Rita de Cássia Dionísio da Silva CRQ 02404597