

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

DAIANE DE AQUINO SILVA

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
BIOQUÍMICAS INDUZIDAS POR UMA DIETA HIPERGLICÍDICA EM
*Drosophila melanogaster***

**Itaqui
2016**

DAIANE DE AQUINO SILVA

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICAS
INDUZIDAS POR UMA DIETA HIPERGLICÍDICA EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Nutrição da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Marina Prigol

Coorientador: Márcia Rósula Poetini

**Itaqui
2016**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

SD132a Silva, Daiane

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICAS
INDUZIDAS POR UMA DIETA HIPERGLICÍDICA EM *Drosophila*
melanogaster / Daiane Silva.

21 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, NUTRIÇÃO, 2016.

"Orientação: Marina Prigol".

1. mosca da fruta. 2. Diabetes Melittus 2. 3. Glicose. 4.
Drosophila melanogaster. 5. Obesidade. I. Título.

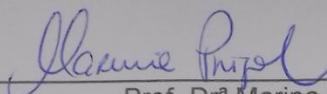
DAIANE DE AQUINO SILVA

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICAS
INDUZIDAS POR UMA DIETA HIPERGLICÍDICA EM *Drosophila melanogaster***

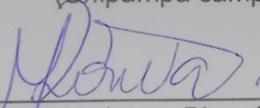
Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Nutrição da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Nutrição.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 16/11/2016.

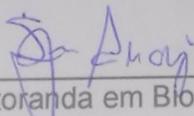
Banca examinadora:



Prof. Dr^a Marina Prigol
Orientador
(Unipampa campus Itaqui)



Nutricionista, Mestranda em Bioquímica Márcia Rósula Poetini
Co-orientadora
(Unipampa campus Uruguaiana)



Nutricionista, Doutoranda em Bioquímica Stéfani Machado Araujo
(Unipampa campus Uruguaiana)

Dedico este trabalho a meu santo guerreiro São Jorge, obrigado por toda a força e proteção.

AGRADECIMENTOS

À Deus Pai, Filho e Espírito Santo que me capacita, me guarda, e me concede forças mesmo nos momentos de fraqueza.

À minha família por me apoiar sempre.

À minha orientadora, Professora Dr^a Marina Prigol, pelos ensinamentos, acolhida e paciência, obrigado por ter me apresentado um novo caminho, sou muito grata por tudo que tens me ensinado nesses últimos meses.

À minha querida Coorientadora, Márcia Rósula Poetini, pelos ensinamentos, pela preocupação, pela amizade, por me apoiar, confiar no meu trabalho e me entusiasmar com a carreira acadêmica, obrigada por tornar esse projeto possível.

À equipe LaftamBio Pampa Mariane Trindade de Paula, Stífani Machado Araujo, Vandrezza Cardozo Bortolotto, Francielli Polet de Almeida e Leticia Gomes Ferreira, obrigado à todas, pela receptividade, pelo imenso auxílio, pelos ensinamentos e pelos momentos de alegria.

“ O Sucesso não é o final, o fracasso não é fatal, a coragem para continuar é o que importa.”

Winston Churchill

Sumário

ARTIGO CIENTÍFICO	9
Resumo	10
Abstrat	11
Introdução	12
Métodos	13
Resultados	15
Discussão	12
Conclusão	19
Referências	19
ANEXO- NORMAS DA REVISTA	21

Este trabalho está na forma de artigo científico seguindo as normas da revista

Revista de nutrição/ Brazilian Journal of Nutrition

Avaliação das alterações comportamentais e bioquímicas induzidas por uma dieta hiperglicídica em *Drosophila melanogaster*

Assessment of behavioral and biochemical changes induced by a high-carbohydrate diet in *Drosophila melanogaster*

Categoria

Bioquímica Nutricional

Autor

Daiane de Aquino Silva ¹ (Silva.D.A) dane.aquino@hotmail.com (55) 96181725

Márcia Rósula Poetini ² (Poetini. M.R) marciapoetini@hotmail.com (55) 99526568

Marina Prigol ³ (Prigol.M) marinaprigol@gmail.com (55)96447424

¹ Curso de Nutrição, Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui, Brasil.

² Mestranda do Programa de pós graduação em bioquímica da Universidade Federal do Pampa; Uruguaiana /RS;

³ Docente Dr^a ; Universidade Federal do Pampa, campus Itaqui.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA - Campus Itaqui

Endereço: Rua Luiz Joaquim de Sá Britto, s/n - Bairro: Promorar - Itaqui - RS - CEP: 97650-000

Contribuição dos autores

Silva.D.A e Poetini. M.R elaboraram o projeto de Pesquisa. Silva.D.A desenvolveu o experimento. Prigol.M e Poetini. M.R fizeram a supervisão de todas as etapas do trabalho. Poetini. M.R realizou a análise estatística e interpretação dos dados. Silva.D.A redigiu o artigo. Todos os autores revisaram e aprovaram a versão final do manuscrito.

RESUMO

Objetivo: O objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações comportamentais e bioquímicas induzidas por uma dieta hiperglicídica em *Drosophila melanogaster*.

Métodos: Foram utilizadas moscas adultas fêmeas, com até 3 dias de idade, divididas em quatro grupos de 50 moscas cada: (1) dieta padrão, (2) dieta hiperglicídica 10%, (3) dieta hiperglicídica 30%, (4) dieta hiperglicídica 40%. As moscas foram expostas as respectivas dietas durante 10 dias. Para as dietas hiperglicídicas foi adicionado sacarose na dieta padrão nas concentrações de 10, 30 e 40 %. Foram avaliados a mortalidade, o peso corporal no início e no fim do experimento a fim de verificar o ganho de peso e ao final dos 10 dias foram avaliadas a atividade locomotora utilizando o teste de geotaxia negativa e o teste de campo aberto. Ao término do experimento as moscas foram crioplanadas, eutanasiadas e homogeneizadas para realização das análises de glicose e triglicerídeos.

Resultados: Nossos resultados demonstram que a ingestão da dieta hiperglicídica culmina em aumento de peso, bem como elevação dos níveis de glicose e triglicerídeos em *Drosophila melanogaster*, nas concentrações de 30% e 40% de sacarose. A dieta hiperglicídica teve um impacto negativo no comportamento locomotor das mesmas, houve redução da mobilidade, bem como aumento do tempo de escalada e também uma redução do estímulo ao vôo.

Conclusão: Este trabalho evidencia que a dieta hiperglicídica causou alterações comportamentais e bioquímicas em *Drosophila melanogaster*, sendo assim um bom modelo para o estudo de alterações metabólicas tais como o diabetes mellitus tipo 2.

Palavras-Chave: glicose. Triglicerídeos. Obesidade. *drosophila*. sacarose.

ABSTRACT

Objective: The objective of this study was to evaluate the behavioral and biochemical changes induced by a hyperglycemic diet in *Drosophila melanogaster*.

Methods: Adult female flies up to 3 days old were divided into four groups of 50 flies each: (1) standard diet, (2) hyperglycemia diet 10%, (3) hyperglycemia diet 30%, (4) diet Hyperglycemia 40%. The flies were exposed to their respective diets for 10 days. For the hyperglycemic diets, sucrose was added in the standard diet at concentrations of 10, 30 and 40%. Mortality, body weight at the beginning and at the end of the experiment were evaluated in order to verify the weight gain and at the end of the 10 days the locomotor activity was evaluated using the negative geotaxia test and the open field test. At the end of the experiment the flies were cryoanesthetized, euthanized and homogenized for glucose and triglyceride analyzes.

Results: Our results demonstrate that the ingestion of the hyperglycemic diet culminates in weight gain as well as elevation of glucose and triglyceride levels in *Drosophila melanogaster* at concentrations of 30% and 40% of sucrose. The hyperglycemic diet had a negative impact on their locomotor behavior, reduced mobility, as well as an increase in climbing time and a reduction in the stimulus to flight.

Conclusion: This work evidences that the hyperglycemic diet caused behavioral and biochemical changes in *Drosophila melanogaster*, being thus a good model for the study of metabolic alterations such as type 2 diabetes mellitus.

Keywords: glucose. Triglycerides. Obesity. *Drosophila*. sucrose.

INTRODUÇÃO

Os hábitos dos brasileiros tem sido redefinidos mudança no padrão alimentar da população, ocorrendo uma substituição de alimentos nutritivos de menor processamento e integrais por alimentos calóricos e pouco nutritivos, principalmente gorduras saturadas e carboidratos ¹. Durante as últimas décadas, tem havido um interesse crescente no papel que o consumo excessivo de carboidratos desempenha no desenvolvimento de desordens metabólicas, pois a associação entre alimentação inadequada, ganho de peso e obesidade já é bem reconhecida, mas o papel do açúcar, consumido em quantidades cada vez maiores desde os anos 1970, como gerador de obesidade e a associação com doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) ainda é um assunto de grande controvérsia ².

As doenças não transmissíveis são a principal causa de mortalidade, tendo sido responsáveis, em 2012, por 38 (68%) dos 56 milhões de mortes em todo o mundo. Mais de 40% dessas mortes (16 milhões) foram prematuras (isto é, antes os 70 anos de idade), ². Entre essas doenças destaca-se o diabetes *mellitus* (DM) que é um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresenta em comum a hiperglicemia, resultante de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambas. Dentre os tipos de DM, o mais comum é o tipo 2 (DM2), que ocorre em cerca de 90% dos casos e é ocasionado por uma interação de fatores genéticos, como a herdabilidade e fatores ambientais, tais como sedentarismo, envelhecimento e dietas ricas em açúcares e gorduras ³. Os efeitos relacionados a essa doença incluem danos a longo prazo, disfunção e falência de vários tecidos e órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos ⁴.

Nesse cenário, e diante da alta incidência dessa condição metabólica do DM 2 no Brasil, bem como dos agravos e índices significativos de morbimortalidade que a doença acarreta à população atingida, reforça-se a necessidade de melhor compreender os mecanismos e fatores que se relacionam diretamente com o seu aparecimento, suas possíveis complicações e seu controle. Logo, são relevantes os acréscimos de conhecimento acerca das estratégias de enfrentamento de tal distúrbio.

Nesse contexto o interesse pelo uso de modelos experimentais alternativos em pesquisas vem crescendo a cada ano. Entre esses modelos destaca-se, a *Drosophila melanogaster* (mosca da fruta), que tem se mostrado uma alternativa

promissora como modelo experimental para o estudo de doenças crônicas, considerando que várias alterações metabólicas relacionadas com a obesidade em seres humanos podem ser observados na *Drosophila melanogaster*, devido á semelhanças existentes entre várias vias de sinalização pertencente aos mamíferos⁵. Com base no exposto o objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações comportamentais e bioquímicas induzidas por uma dieta hiperglicídica, afim de verificar a viabilidade de um modelo de estudo experimental tipo diabetes em *Drosophila melanogaster*.

MÉTODOS

As *Drosophila melanogaster* tipo selvagem (estirpe Harwich) foram obtidas a partir da Espécie Nacional da Center, Bowling Green, Ohio, USA. Foram utilizadas moscas adultas fêmeas, com até 3 dias de idade, mantidas em temperatura controlada de 25°C a 30°C, com 60% de umidade em ciclos claro e escuro por 12 horas.

Divididas em quatro grupos de 50 moscas cada: (1) dieta padrão, (2) dieta hiperglicídica 10%, (3) dieta hiperglicídica 30%, (4) dieta hiperglicídica 40%. Para a dieta padrão foi utilizada uma mistura padronizada nas concentrações descritas de acordo com a **Tabela 1**.

Tabela 1 Composição da dieta padrão

Ingrediente	%
Farinha de milho M	34,02%
Farinha de milho G	42,53%
Gérmen de trigo	8,54%
Açúcar	7,23%
Leite	7,23%
Sal	0,42%
Fermento em pó	0,042%
Total	100%

Para as dietas hiperglicídicas foi adicionado sacarose nas concentrações de 10, 30 e 40 %. As moscas foram expostas as respectivas dietas durante 10 dias.

A taxa de mortalidade foi avaliada por contagem diária do número de moscas sobreviveram até final do período experimental, (10 dias) cerca de 150 moscas por

grupo foram incluídos nos dados de mortalidade e o número total de moscas representa a soma das três repetições (50 moscas / cada repetição do tratamento).

Para a avaliação do ganho de peso, mediu-se o peso corporal no início e no fim do experimento. A variação de peso corporal foi determinada comparando o peso das moscas nas diferentes concentrações de sacarose com o grupo controle.

Ao final do período experimental (10 dias), foram avaliadas a atividade locomotora utilizando o teste de geotaxia negativa, de acordo com ⁶ onde o desempenho das moscas alimentadas com dieta padrão e dieta hiperglicídica foi investigado. Para avaliação do teste geotaxia negativa, dez moscas alimentadas com dieta padrão e dieta hiperglicídica foram imobilizadas sob anestesia leve com gelo e colocadas separadamente em um recipiente vertical (15 cm de largura e 1,5 cm de diâmetro). Depois de 30 minutos de recuperação da anestesia, as moscas foram depositadas na parte inferior do recipiente e o tempo que ela levou para alcançar a altura de 8 cm foi cronometrado. Os testes foram repetidos cinco vezes para cada mosca em intervalos de um minuto. Os resultados são apresentados na média de tempo de cinco avaliações independentes.

Para avaliação da capacidade exploratória foi realizado o teste de campo aberto, onde 5 moscas foram usadas em cada grupo e estas foram mantidas em uma placa de petri coberta, dividida em quadrantes de 1 centímetro. A trajetória resultante foi registrada por cronômetro digital durante um minuto (60 segundos), de acordo com o número de quadrados explorados por cada mosca analisada. O número total de moscas (60), representa a soma das repetições independentes. Metodologia conforme descrito por ⁷.

Após o período do experimento as moscas foram crioanestesiadas, eutanasiadas e homogeneizadas para realização das análises de glicose e triglicerídeos, avaliados através de Kits comerciais (LABTEST – MG / Brasil). Todos os ensaios foram realizados em quadruplicata.

A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prism, utilizando ANOVA de uma via, seguido pelo teste post-hoc de Newman-Keuls com valor de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

A dieta hiperglicídica causou aumento significativo das taxas de mortalidade e aumento do peso corporal quando comparadas ao grupo controle. Na figura 1A o índice de mortalidade do grupo controle foi em média 23,3% enquanto nas dietas hiperglicídicas esses índices se elevam para 41,27%, 37,27% e 44,18 % respectivamente. Na figura 1B podemos observar o aumento de peso corporal das moscas expostas as dietas padrão e hiperglicídicas nos 10 dias de experimento, onde o grupo com dieta 10% de sacarose aumentou de peso apenas 5% em relação ao grupo controle, porém os grupos com dietas 30% e 40% de sacarose diferem significativamente do grupo controle com aumento de peso corporal 176,62% e 162% respectivamente.

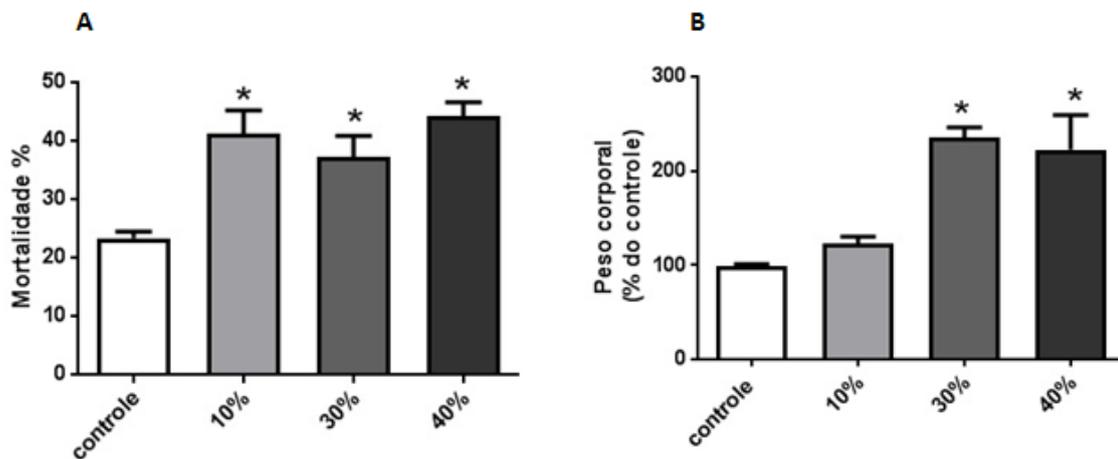


Fig. 1. Efeito da dieta padrão e dieta hiperglicídica (com adição de sacarose 10, 30 e 40 %) no metabolismo de *Drosophila melanogaster*. Figura 1 A, índice de mortalidade. Figura 1 B, ganho de peso corporal em relação ao grupo controle. Os valores são média \pm desvio padrão (n = 50 moscas por experimento, quatro experimentos independentes foram realizados). * Diferença significativa em relação ao grupo controle.

Conforme visto na Figura 2 a exposição das moscas a uma dieta hiperglicídica teve um impacto negativo no comportamento locomotor das mesmas. No teste de campo aberto (Figura 2 A) houve redução da mobilidade das moscas tratadas com a dieta hiperglicídica quando comparadas à dieta padrão. As moscas alimentadas com dieta hiperglicídica 10%, 30% e 40% tiveram mobilidade de 2 a 4 vezes menor que as moscas alimentadas com dieta padrão. No teste de geotaxia negativa, (Figura 2 B), as moscas expostas a dieta hiperglicídica tiveram um aumento do tempo de escalada e também uma redução do estímulo ao vôo, todos

os grupos experimentais (10%, 30% e 40%) diferiram estatisticamente do grupo controle (dieta padrão), sendo que no grupo com 40% de sacarose houve um aumento no tempo de escalada 7 vezes maior quando comparado com o grupo controle.

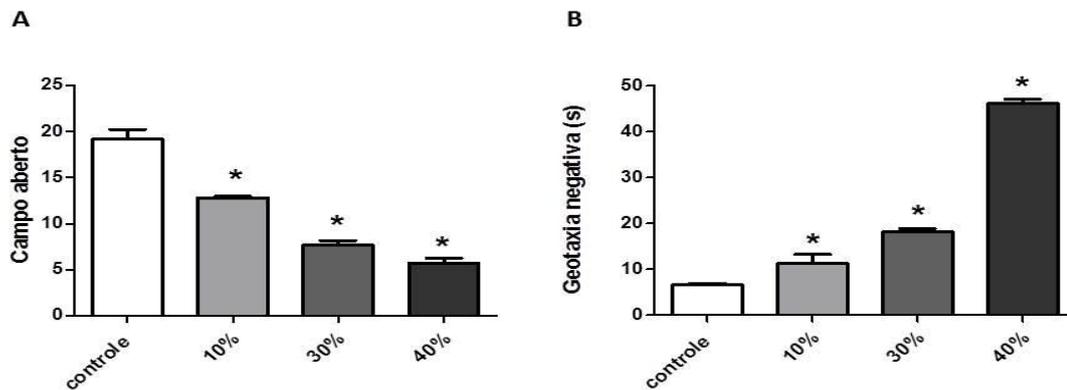


Fig. 2. Efeito da dieta padrão e dieta hiperglicídica (com adição de sacarose 10, 30 e 40 %) na dieta padrão, na atividade locomotora e exploratória de *Drosophila melanogaster* (Figura 2 A) no teste de campo aberto e (Figura 2 B) na geotaxia negativa. * Diferença significativa em relação ao grupo controle.

Nossos resultados demonstram que a ingestão das dietas hiperglicídicas culmina em aumento dos níveis de glicose e aumento dos níveis de triglicerídeos em *Drosophila melanogaster* (Figuras 3 A e 3 B). Na análise dos níveis de glicose quando comparado com o grupo controle (dieta padrão) o grupo com 10% de sacarose, não diferiu significativamente, aumentando somente 3,25% os níveis, entretanto os grupos 30% e 40% aumentaram 60,42% e 57,74% os níveis de glicose em relação ao grupo controle. Na análise de triglicerídeos o grupo com dieta 10% de sacarose também não diferiu significativamente do grupo com dieta padrão, porém aumentou os níveis em 9,14%, os grupos experimentais 30% e 40% de sacarose obtiveram um aumento nos níveis de triglicerídeos de 53,65% e 33,84% respectivamente.

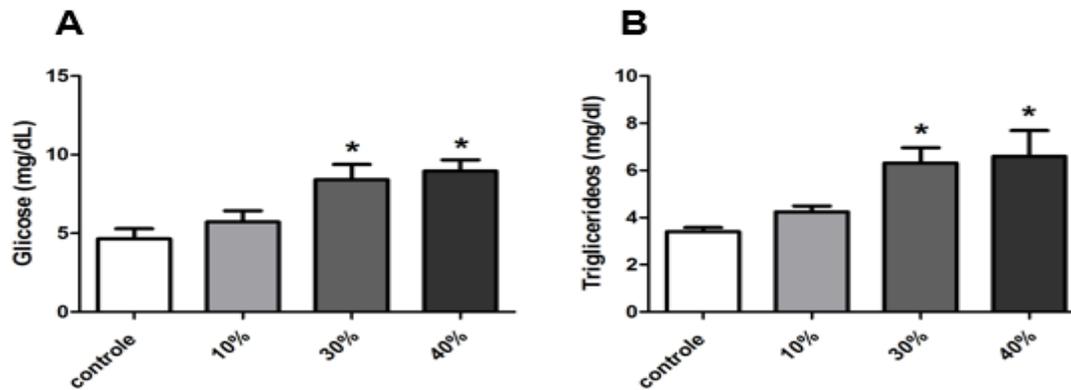


Fig. 3. Efeito da dieta padrão e dieta hiperglicídica (com adição de sacarose 10, 30 e 40 %) no metabolismo de *Drosophila melanogaster*. Figura 3 A, níveis de glicose. Figura 3 B, níveis de triglicérides. * Diferença significativa em relação ao grupo controle.

DISCUSSÃO

Os resultados desse estudo indica que a ingestão de dieta hiperglicídica contendo sacarose causou alterações no metabolismo de *Drosophila melanogaster*. A sacarose ingerida nas maiores concentrações (30% e 40%), causou aumento da mortalidade, aumento de peso corporal, redução do desempenho locomotor e exploratório, assim como elevação dos níveis de glicose e triglicérides.

De acordo com a literatura, determinados pesquisadores criaram modelos para estudar diabetes através de dietas hiperglicídicas, com o intuito de analisar os efeitos do excesso de açúcar no metabolismo de *Drosophilas*^{8 9 10}, Alguns estudos realizados com moscas adultas e larvas, relatam que as moscas alimentadas com uma dieta de alto teor calórico desenvolvem hiperglicemia, uma característica de diabetes em seres humanos, o qual é tipicamente marcado em moscas da fruta como um aumento de glicose e trealose, o açúcar de circulação primária no organismo das moscas⁸. Em nosso estudo observamos que nas maiores concentrações de sacarose (30% e 40%) ocorreu os maiores níveis de glicose corporal, o nível glicêmico foi mais intenso nas moscas que foram alimentados com dieta hiperglicídica 40%, o que sugere um alcance da glicemia semelhante ao que é observado em moscas resistentes à insulina.

O aumento do nível glicêmico em dietas hiperglicídica já foi descrito anteriormente na literatura e o resultado está de acordo com⁴, que relata em seu estudo que dietas hiperglicídicas desequilibram a homeostase metabólica em *Drosophila melanogaster*, além de promoverem fenótipos de obesidade e resistência

à insulina. Além disso, uma das complicações metabólicas graves de diabetes é cetoacidose, o que pode resultar em níveis de glicose circulante excepcionalmente elevados ⁸.

A maior parte das enzimas metabólicas em mamíferos são conservadas em *Drosophila*, por exemplo, os genes que regulam a absorção de lipídios, transporte, armazenamento e mobilização são todos bem conservados ¹¹. De acordo com ⁵ dietas hiperlipídicas resultam em redução do desempenho locomotor, aumento da mortalidade e aumento do peso corporal em *Drosophila*, sendo que a obesidade é uma das principais causas dessas alterações, estando diretamente ligada a redução do tempo de vida das moscas, pois os danos oxidativos podem favorecer processos de danos celulares e processos inflamatórios. A obesidade causada pelo acúmulo de lipídios no tecido adiposo, é responsável por desencadear o estresse celular, um processo de Inflamação crônica caracterizada por produção anormal das citocinas pelo tecido adiposo ¹². Nesse contexto, o aumento de massa corporal das moscas foi resultante, provavelmente, do desenvolvimento da adiposidade, corroborando com o quadro de obesidade, o que está em conformidade com ¹³, que relata em seu estudo um aumento de tecido adiposo em moscas expostas a dietas com altas quantidades de sacarose.

Para determinar se a dieta hiperglicídica aumentou o armazenamento de gordura em *Drosophila*, mediu-se os triglicérides, a principal forma de gordura armazenada, em moscas e larvas. Houve um aumento significativo na porcentagem de gordura corporal, em comparação com as moscas alimentadas com dieta padrão. O aumento do TAG foi semelhante ao observado por ⁸ que relata em seu estudo um acúmulo de triglicérides em moscas alimentadas com dieta hiperglicídica quando comparadas aos grupos alimentados com as dietas padrão.

Um importante resultado observado em nosso estudo e não relatado por outros autores é que dietas hiperglicídicas, mesmo na menor concentração (10%), levou a alterações comportamentais relacionadas a locomoção, evidenciando que o presente estudo fornece a primeira evidência de que o desenvolvimento da fadiga neuromuscular relacionada ao estresse metabólico é acelerado em *Drosophila melanogaster* com fenótipos de obesidade e diabetes *mellitus* tipo 2.

CONCLUSÃO

Este trabalho evidencia que a indução de dieta hiperglicídica em *Drosophila melanogaster* causou alterações comportamentais relacionadas a locomoção assim como o ganho de peso e aumento nos níveis de glicose e triglicerídeos, sendo assim um bom modelo para o estudo de alterações metabólicas tais como o DM2.

REFERÊNCIAS

- [1] CARVALHO. S S, SILVA.M.DE A, COELHO.JMF. Contribuições do tratamento não farmacológico para Diabetes *Mellitus* tipo 2. Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, 2015. v. 5, n. 2. DOI: <http://dx.doi.org/10.17058/reci.v5i2.5616>
- [2] WORLD HEALTH REPORT 2015. Diretriz: Ingestão de açúcares por adultos e crianças. Genebra, Organização Mundial da Saúde, Disponível em (http://www.who.int/oral_health/media/en/orh_report03_en.pdf, consultado em 14 de Outubro de 2016).
- [3] SBD (Sociedade Brasileira de Diabetes) Disponível em <<http://www.diabetes.org.br/para-o-publico/diabetes/tipos-de-diabetes>> Acesso em 25 de Outubro de 2016.
- [4] ROVENKO.B M, PERKHULYN NV, GOSPODARYO VD, SANZ A, LUSHCHAK O High consumption of fructose rather than glucose promotes a diet-induced obese phenotype in *Drosophila melanogaster*. Rev. Comparative Biochemistry and Physiology, 2015 Part A 180 75–85.DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.11.008>
- [5] DE PAULA T M, SILVA, M R, ARAUJO, *et al* High-Fat Diet Induces Oxidative Stress and MPK2 and HSP83 Gene Expression in *Drosophila melanogaster*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016. Volume 2016 , Article ID 4018157, 12 pages. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4018157>
- [6] COULOM AND S, BIRMAN, “Chronic exposure to rotenone models sporadic Parkinson’s disease in *Drosophila melanogaster*,” The Journal of Neuroscience, 2004

vol. 24, no. 48, pp. 10993–10998. DOI: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2993-04.2004>

[7] HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. CNS Neurol. Disord. 2010. Drug Targets 9, 504–523. DOI: <https://doi.org/10.2174/187152710791556104>

[8] MUSSELMAN, L. P, FINK, J. L, *et al* A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. Dis. Model. Mech. 2011. 4, 842-849. DOI: [10.1242/dmm.007948](https://doi.org/10.1242/dmm.007948).

[9] PASCO, M. Y. AND LÉOPOLD, P. High sugar-induced insulin resistance in *Drosophila* relies on the lipocalin Neural Lazarillo. PLoS ONE 7. 2012 e36583. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0036583>.

[10] NA, J, MUSSELMAN L. P, *et al* A *Drosophila* model of high sugar diet-induced cardiomyopathy. 2013 PLoS Genet. 9, e1003175. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1003175>

[11] TRINH, I. AND BOULIANNE, G. L. Modeling obesity and its associated disorders in *Drosophila*. Physiology (Bethesda) 2013. 28, 117–124. DOI: [10.1152/physiol.00025.2012](https://doi.org/10.1152/physiol.00025.2012)

[12] DI NASO, F. C, RODRIGUES. G, *et al* Hepatic nitrosative stress in experimental diabetes. Journal of Diabetes and its Complications, 2012. 26(5), 378-381. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2012.04.015>

[13] MORRIS.S.N, COOGAN.C, *et al* Development of diet-induced insulin resistance in adult *Drosophila melanogaster*. Biochimica et Biophysica Acta 2012. 1822 pg 1230–1237. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.04.012>

ANEXO - Normas da Revista Brazilian Journal of Nutrition



ISSN 1415-5273 *printed version*
ISSN 1678-9865 *online version*

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

- [Scope and Policy](#)
- [Article Category](#)
- [Authorship](#)
- [Manuscript Assessment Process](#)
- [Preparation of the manuscript](#)
- [Checklist](#)
- [Documents](#)

The cover page must contain:

Complete title in Portuguese: (i) the title must be concise and avoid unnecessary and/or redundant words, such as “assessment of,” “considerations about,” “an exploratory study about;” (ii) do not use abbreviations or indicate the geographic location of the study.

Suggest a short title in English and Portuguese or Spanish for the header with no more than 40 characters with spaces.

Include complete title in English compatible with the title in Portuguese

Include the full name of each author. Do not abbreviate the first names.

Inform the origin, title, and current institutional affiliation of each author in full.

Do not use abbreviations.

Indicate the full address of the institution of the corresponding author.

Inform the telephone number and e-mail address of all authors.

Indication of category and thematic area of the article.

Explicitly inform the contribution made by each author. Authorship credit must be based on substantial contributions, such as study conception and design, data analysis and interpretation, article review, and approval of the final version. Including the names of authors who have not made any of the contributions above is not justified.

Inform the ORCID® (Open Researcher and Contributor ID) record number. If you do not have one, register for free at: < <https://orcid.org/register>>. Learn more here. Inform whether the article is based on a dissertation or thesis, indicating the title, author, university, and year of publication.

The authors may include a footnote to acknowledge the sponsor and indicate the number of the process and/or notice, and to acknowledge the collaboration of

peers and technicians. The paragraph may not exceed three lines. Note: this must be the only part of the text identifying the authors.

Abstract: all articles submitted in Portuguese or Spanish must contain an abstract in the original language and in English, with at least 150 words and at most 250 words.

The articles submitted in English must contain an abstract in Portuguese in addition to the abstract in English.

Original articles must contain structured abstracts containing objectives, basic research methods, information regarding study location, population and sample, results and most relevant conclusions, considering the objectives of the work and indicating ways of continuing the study.

The other categories should contain a narrative abstract but with the same information.

The text should not contain citations and abbreviations. Provide from 3 to 6 keywords using Bireme's Health Sciences descriptors. <<http://decs.bvs.br>>.

Text: except for the manuscripts presented as Review, Communication, Scientific Note and Assay, the works must follow the formal structure for scientific works:

Introduction: must contain a current literature review pertinent to the theme and appropriate to the presentation of the problem, also emphasizing its relevance. It should not be extensive except for manuscripts submitted as Review Articles. Methods: must contain a clear and brief description of the method, including the corresponding literature: procedures, universe and sample, measurement tools, and validation method and statistical treatment when applicable.

Regarding the statistical analysis, the authors should demonstrate that the procedures were not only appropriate to test the hypotheses of the study but were also interpreted correctly. The statistical significance levels (e.g $p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$) must be mentioned.

Inform that the research was approved by an Ethics Committee certified by the National Council of Health and provide the number of the protocol. When experiments with animals are reported, indicate if the guidelines of the institutional or national research councils - or if any national law regarding the care and use of laboratory animals - were followed.

Results: whenever possible, the results must be presented in self-explanatory tables and figures and contain statistical analysis. Avoid repeating the data in the text. Illustrations: All types of tables, figures, graphs, drawings, schemes, flowcharts, photographs, maps, organograms, diagrams, blueprints, charts, pictures, etc. are considered illustrations, which serve to illustrate study data. All empirical studies must include the study location and year.

The author is responsible for the quality of the illustrations, should enable size reduction without loss of resolution, observing the following measures: Portrait format: one column (7,5cm); two columns (15cm). Landscape format: one column (22 x 7,5cm); two columns (22 x 15cm). Provide a short and concise title to each illustration and number them consecutively and independently using Arabic digits in the order that they are mentioned in the text. Charts and tables must have open side borders. Graphs must contain the title of all axes and all columns of Tables and Charts must have headers. The words Figure, Table, and Attachment in the text must be capitalized and accompanied by the respective number. Indicate in the text where the illustrations should be inserted. Keep titles concise. Always include explanatory notes. If any abbreviation or symbol (bold, asterisk, etc.) is used, inform its meaning in the subtitle of the illustration. If illustrations published in other references are used, attach the document containing the authorization for their use and cite the source. The contents of illustrations, tables, charts, and figures in bilingual articles or articles in any language other than Portuguese must be translated, and numbers must agree with the language of the article. For example, articles in English use a period to indicate the decimal mark: 1,254.76 grams.

The use of color images is recommended, and color articles are published free of charge.

Discussion: the discussion must properly and objectively explore the results under the light of other observations already published in the literature.

Conclusion: present the relevant conclusions, considering the objectives of the work, and indicate ways to continue the study. Literature citations will not be accepted in this section.

Acknowledgments: may be made in a paragraph no bigger than three lines to institutions or individuals who actually collaborated with the work. Attachments: should be included only when they are essential to the understanding of the text. The editors will decide upon the need of their publication. Abbreviations and acronyms:

should be used in a standardized fashion and restricted to those used conventionally or sanctioned by use, followed by the meaning in full when it is first mentioned in the text. They must not be used in the title and abstract.

References must follow the Vancouver style. References must be numbered consecutively according to the order that they were first mentioned in the text, according to the Vancouver style.

All authors should be cited in references with two to six authors; if more than six authors, only the first six should be cited followed by et al. The abbreviations of cited journals should be in agreement with the Index Medicus.

At least 80% of the references must have been published within the last five years in indexed journals, and 20% within the last two years. Citations/references of undergraduate monographs, works presented in congresses, symposiums, workshops, meetings, among others, and unpublished texts (classes among others) will not be accepted. If an unpublished study is cited (article in press), the authors must send a copy of the acceptance letter (the article must be approved and have a publication date) of the journal that will publish the article.

If unpublished data obtained by other researchers are cited in the manuscript, it is necessary to include a letter authorizing the use of such data by the original authors.

Literature citations in the text should be in numerical order, Arabic numerals, placed after the citation in superscript, and included in the references. If two authors are mentioned, both are cited using the "&" in between; if more than two authors, the first author is cited followed by the et al. expression.

Direct citations translated by the authors must be accompanied by a footnote containing the text in the original language. Indicate that the citation was translated by the author as follows: (Rodgers et al., 2011, our translation).

The accuracy and appropriateness of references to works that have been consulted and mentioned in the text of the article are of the author(s) responsibility. All studies cited in the text must be listed in the References.