

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS - ICBIM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E ESTRUTURAL
APLICADAS

JÉSSICA FORTUNATO SILVA

**EXPOSIÇÃO INTRAUTERINA A DIETA HIPERLIPÍDICA, COM
DIFERENTES TEORES DE LIPÍDIOS, E SUAS REPERCUSSÕES
GASTRINTESTINAIS E METABÓLICAS: UM MODELO DE
PROGRAMAÇÃO FETAL EM RATOS *WISTAR***

UBERLÂNDIA
2019

JÉSSICA FORTUNATO SILVA

**EXPOSIÇÃO INTRAUTERINA A DIETA HIPERLIPÍDICA, COM
DIFERENTES TEORES DE LIPÍDIOS, E SUAS REPERCUSSÕES
GASTRINTESTINAIS E METABÓLICAS: UM MODELO DE
PROGRAMAÇÃO FETAL EM RATOS *WISTAR***

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Celular.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Paula Coelho Balbi

UBERLÂNDIA
2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural
Aplicadas
Rua Piauí, Bloco 2B, Sala 2B218 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: 34 3225-8484 - ppgbc@icbim.ufu.br



ATA

Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO junto ao Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: Dissertação de Mestrado Acadêmico

Número: 003/2019 do PPGBC

Data: **28 de Fevereiro de 2019**

Discente: **Jéssica Fortunato Silva**

Matrícula nº 11712BCE002

Título do Trabalho: **“Exposição intrauterina a dieta hiperlipídica, com diferentes teores de lipídios, e suas repercussões gastrintestinais e metabólicas: um modelo de programação fetal em ratos *Wistar*”**

Área de concentração: Biologia Celular

Linha de Pesquisa: Biologia Celular de Doenças Infecciosas e Degenerativas

Projeto de Pesquisa vinculado: "Exposição intrauterina a dieta hiperlipídica, com diferentes teores de lipídeos, e suas repercussões renais, gastrintestinais, cardiovasculares e metabólicas: um modelo de programação fetal em ratos *Wistar*"

DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às quatorze horas do dia vinte e oito de fevereiro do ano de 2019 no Laboratório de Práticas Virtuais, Sala 2A112 – Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas, assim composta: **Professoras Doutoras: Angélica de Oliveira Gomes – UFTM; Geórgia das Graças Pena – UFU e Ana Paula Coelho Balbi, orientadora** da candidata. Iniciando os trabalhos a presidente da mesa Profa. Dra. Ana Paula Coelho Balbi apresentou a Comissão Examinadora e a candidata **Jéssica Fortunato Silva**, agradeceu a presença do público, e concedeu à discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa. A seguir a senhora presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais.

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata **Jéssica Fortunato Silva** aprovada. Sugerindo, (se couber) o novo título para o trabalho: _____

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU, em especial do artigo 55 da resolução 12/2008 do Conselho de Pós-graduação e Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos às 17 horas e 35 minutos. Foi lavrada a presente ata que após lida e conferida, foi assinada pela **Banca Examinadora**:

Profa. Dra. Ana Paula Coelho Balbi - UFU/orientadora; Profa. Dra. Geórgia das Graças Pena - UFU; Profa. Dra. Angélica de Oliveira Gomes – UFTM.



Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula Coelho Balbi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2019, às 17:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Geórgia das Graças Pena, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2019, às 17:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Angelica de Oliveira Gomes, Usuário Externo**, em 11/03/2019, às 22:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1005685** e o código CRC **1859627B**.

Referência: Processo nº 23117.004243/2019-23

SEI nº 1005685

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S586e
2019 Silva, Jéssica Fortunato, 1992
Exposição intrauterina a dieta hiperlipídica, com diferentes teores de lipídios, e suas repercussões gastrintestinais e metabólicas [recurso eletrônico] : um modelo de programação fetal em ratos Wistar / Jéssica Fortunato Silva. - 2019.

Orientadora: Ana Paula Coelho Balbi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1242>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Citologia. 2. Dieta hiperlipídica. 3. Metabolismo. 4. Gravidez. I. Balbi, Ana Paula Coelho, 1976, (Orient.) II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas. III. Título.

CDU: 576.3

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

AGRADECIMENTOS

“Para que todos vejam, e saibam, e considerem, e juntamente entendam que a mão do Senhor fez isso...” (Bíblia – Isaías 41:20).

Enfim Mestre!

Que Jesus Cristo, o meu maior Mestre, seja honrado e glorificado por essa conquista. Eu tenho total convicção de que essa realização é fruto da graça, do cuidado e amor incalculável de Deus na minha vida. Ele, dono de toda ciência, sabedoria e poder, sempre esteve (e está) no controle de tudo, cumprindo os planos dEle em minha vida, me sustentando, e designando pessoas abençoadas por Ele para serem meu suporte em todo esse tempo.

Minha eterna gratidão ao meu “Amor Maior que eu”. John, obrigada por um dia ter dito sim! Sim, para tudo o que a gente ainda não tinha ideia do que viria quando decidimos nos casar. Sim, para o meu amor. Sim, em escolher caminhar ao meu lado, fazendo dos meus sonhos, seus também. Obrigada por repetir esse “Sim” todos os dias, em silêncio, com todo o seu cuidado por mim. Obrigada pelas noites viradas; pelas semanas emendadas; pelo domínio do seu medo de ratos para me ajudar nos experimentos quando foi preciso; por não me deixar desesperar nunca. Enfim, obrigada por todas as vezes que você abriu mão de você, por mim. Hoje percebo que ser o Grande amor da minha vida é pouco para você. Você é meu PARCEIRO.

À Ana, meus sinceros agradecimentos. Sem dúvidas você é uma das pessoas que Deus colocou no meu caminho para abençoar a minha vida. Foi tão difícil escrever esse agradecimento, pois a cada palavra um filme se passou em minha cabeça e as lágrimas foram inevitáveis...fiz várias pausas. Enfim, há 6 anos você decidiu acreditar no meu potencial e essa é minha maior gratidão a você. Obrigada por despertar em mim tudo o que há de melhor; por trabalhar com tanta ética e justiça; por me dar liberdade e instigar o meu desejo pela pesquisa; por me ensinar com tanto amor; por me dar conselhos de mãe; por me abraçar e chorar comigo e por mim, quando precisei. Obrigada por me incentivar a dar o meu melhor sempre. Você foi muito mais que orientadora, você foi (e é) um grande EXEMPLO.

Desejo igualmente agradecer aos meus pais (Ana Paula e Valdeir) por todos os ensinamentos e por serem meu alicerce. Agradeço ainda ao meu irmão Arthur, minha eterna motivação de trabalhar o que há de melhor em mim. Vocês sempre estiveram presentes em todas as minhas conquistas, vocês vibraram comigo desde a aprovação no vestibular e se

alegram nesse dia. Como eu poderia deixar de agradecê-los por todo amor dedicado a mim? Vocês vivenciaram o mestrado junto comigo, mesmo não entendendo muito bem a tal da pesquisa, kkkk. Como eu sou grata à Deus por tê-los em minha vida.

Agradeço a minha querida Livinha, pela importante parceria, por me permitir trabalhar junto. Foi de grande aprendizado. Obrigada por viver o mestrado comigo, por aceitar e ajudar a concretizar as minhas ideias malucas, kkkk. Louvado seja o Senhor por fazer os nossos caminhos se cruzarem, permitindo que vivêssemos juntas essa jornada. Essa conquista também é sua. Agradeço ainda, ao Victor Augusto, cujo auxílio foi imprescindível nesses últimos dias e a todos que de algum modo contribuíram para que eu chegasse até aqui hoje.

Devo agradecer ainda às professoras que irão compor a minha banca examinadora (Profª Geórgia e Profª Angélica). Obrigada por aceitarem o meu convite, disporem dos seus tempos para estarem presentes em um dos momentos mais importantes da minha vida acadêmica, e por contribuírem valorosamente para o enriquecimento do meu trabalho.

Por fim, e não menos importante, agradeço ao Tito, que na sua inocência de criança teve o coração aberto em dividir sua mãe comigo, principalmente nos últimos dias, em que a Ana foi essencial, me ajudando nos detalhes finais e importantes para a defesa. Eu não poderia jamais deixar de agradecer esse pequeno anjo.

Que a vida de todos vocês, seja grandemente abençoada pelo Senhor!

“Se o propósito de Deus para o seu trabalho é que você sirva à sociedade humana, então o melhor jeito de servir a Deus é realizando a tarefa da melhor maneira possível”.

(Timothy Keller e Katherine Leary Alsdorf)

RESUMO

Diante de um estilo de vida dos indivíduos frequentemente exposto a uma dieta excessivamente rica em gorduras, surgiram questionamentos se tal dieta durante a gestação poderia, também, causar impactos à saúde do feto em desenvolvimento, aumentando os riscos de doenças metabólicas quando adulto. **Objetivo:** investigar as possíveis repercussões gastrointestinais e metabólicas na prole de ratas *Wistar* expostas à dieta hiperlipídica, com diferentes teores de lipídeos. **Metodologia:** As ratas grávidas foram divididas nos grupos: C (grupo controle: mães submetidas à dieta normolipídica – 3,5% de lipídeos), E1 (grupo experimental 1: mães submetidas à dieta com 28% de lipídeos) e E2 (grupo experimental 2: mães submetidas à dieta com 40% de lipídeos). Durante o período gestacional foram avaliados parâmetros maternos como consumo de ração e líquidos, bem como a variação de peso corporal. Os testes de função, bem como a morfometria gastrointestinal foram realizadas nos filhotes de 30 dias, enquanto que as análises metabólicas (determinação de pressão arterial, determinação de lipídeos séricos, testes de função renal e avaliação de adiposidade corporal, por meio do índice de Lee e peso de tecido adiposo seco) foram realizadas nos filhotes de 120 dias. **Resultados:** No grupo E1 encontramos as seguintes alterações: maior consumo calórico e lipídico pelas ratas grávidas; menor peso corporal, apesar de maior adiposidade aos 120 dias, e também foi encontrada uma menor Taxa de Filtração Glomerular (TFG) nos animais dessa idade; enquanto nos filhotes de 30 dias, foi observado menor peso relativo do estômago, menor índice de úlcera (IU), parede e mucosa estomacais mais espessas, menor espessura da mucosa jejunal, apesar da maior área apresentada por esse segmento de intestino delgado, e menor espessura da parede retal. Já nos animais do grupo E2-40% foram encontrados menores consumos de ração, de carboidratos e proteínas, acompanhado pelo aumento do consumo lipídico pelas mães; menor peso corporal, apesar de maior adiposidade na prole aos 120 dias de idade; menor peso corporal, além de peso e área do estômago reduzidos, bem como menores IU e peso bruto, mas maior peso relativo do intestino delgado, menor espessura da mucosa ileal, refletindo na espessura total desse segmento, além de menor espessura da mucosa e camada muscular colônica e cecal, conferindo menor espessura total da parede desses segmentos intestinais na prole aos 30 dias de idade. **Conclusão:** A dieta materna rica em gorduras foi capaz de promover importantes alterações metabólicas e gastrointestinais na prole aos 30 e 120 dias de idade.

Palavras-Chave: dieta hiperlipídica materna, programação fetal, prole, alterações gastrointestinais, alterações metabólicas.

ABSTRACT

Background: Faced with our lifestyle often exposed to an excessively high fat diet, questions began to arise whether such a diet during pregnancy could also impact the health of the developing fetus, increasing the risk of metabolic diseases as an adult. **Aims:** to investigate the possible gastrointestinal and metabolic repercussions in the offspring exposed to the maternal hyperlipidic diet, with different lipid levels. **Methods:** Pregnant rats were divided into groups: C (control group: mothers submitted to a normolipid diet - 3.5% of lipids), E1 (experimental group 1: mothers submitted to diet with 28% of lipids) and E2 (experimental group 2: mothers on a 40% lipid diet). During the gestational period, maternal parameters such as feed intake and fluid intake, as well as body weight variation were evaluated. Functional tests as well as gastrointestinal morphometry were performed in the 30-day-old pups, while metabolic analyzes (blood pressure determination, serum lipid determination, renal function tests and body adiposity assessment using the Lee index and dry adipose tissue weight) were performed on the 120 day old pups. **Results:** In group E1 we found the following changes: higher caloric and lipid intake by pregnant rats; lower body weight, despite higher adiposity at 120 days, and a lower Glomerular Filtration Rate (GFR) was also found in the animals of that age; while in the 30-day-old offspring, a lower relative weight of the stomach, lower ulcer rate (UR), thicker stomach wall and mucosa, and a smaller thickness of the jejunal mucosa were observed, despite the larger area presented by this segment of the small intestine and smaller thickness of the rectal wall. In the animals of the E2-40% group, lower intakes of diet, carbohydrates and proteins were found, accompanied by an increase in lipid intake by the mothers; lower body weight, despite higher adiposity in offspring at 120 days of age; lower body weight, as well as reduced weight and stomach area, as well as lower UI and gross weight, but higher relative weight of the small intestine, lower thickness of the ileal mucosa, reflecting the total thickness of this segment, as well as a lower thickness of the mucosa and layer colonic and cecal muscles, giving a lower total wall thickness of these intestinal segments in offspring at 30 days of age. **Conclusion:** The high-fat diet maternal was able to promote important metabolic and gastrointestinal changes in offspring at 30 and 120 days of age. **Keywords:** high-fat diet maternal, fetal programming, offspring, gastrointestinal changes, alterações metabólicas.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Supostos mecanismos moleculares ligados à programação fetal.	21
Figura 2 - Anatomia geral do trato gastrointestinal e suas divisões em segmentos funcionais..	27
Figura 3 - Regiões funcionais do estômago.	30
Figura 4 - Subdivisões anatômicas do intestino grosso.....	31
Figura 5 - Organização geral das camadas que compõem a parede do TGI.	32
Figura 6 - Representação da estrutura da mucosa gástrica (A) e estrutura detalhada das glândulas gástricas e tipos celulares da mucosa (B).....	34
Figura 7 - Diagrama ilustrativo da estrutura do intestino delgado.	35
Figura 8 - Comparação entre morfologia do epitélio do intestino delgado e do intestino grosso.....	36
Quadro 1 - Definições de Síndrome Metabólica em adultos.....	38
Figura 9 - Distância percorrida pelo carvão ativado.	43
Figura 10 - Classificação em escore para as lesões gástricas.	45
Figura 11 - Representação das porções intestinais referentes aos fragmentos coletados para análise estrutural.	46
Figura 12 - Representação esquemática da mensuração das espessuras das camadas da parede do TGI.	47
Figura 13 - Esquema do procedimento de canulação. A: sítio de dissecação para cateterização da artéria femoral. B: isolamento da artéria femoral e inserção da cânula.....	48
Figura 14 - Coleta de tecido adiposo retroperitoneal e gonadal.	51
Figura 15 - Gráfico do número total de filhotes (A) e número de filhotes por sexo (B).....	52
Figura 16 - Gráficos do ganho de peso (A) e da variação de peso maternos (B) ao longo da gestação.	52
Figura 17 - Gráfico do consumo materno de líquido.	53
Figura 18 - Gráficos do consumo de ração (A) e consumo calórico diário (B) das ratas grávidas.....	53
Figura 19 - Gráficos do consumo de carboidratos (A), proteínas (B) e lipídeos (C) das ratas grávidas.....	54
Figura 20 - Gráficos do peso corporal (A) e do peso bruto do estômago (B) dos filhotes machos de 30 dias.....	55
Figura 21 - Gráficos da área (A) e do peso relativo do estômago (B) dos filhotes machos de 30 dias.....	55
Figura 22 - Gráficos da espessura total (A) e da espessura das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do estômago dos filhotes machos de 30 dias.....	56
Figura 23 - Gráfico do índice de úlcera/área dos filhotes machos de 30 dias.	56
Figura 24 - Gráfico do comprimento do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias. ..	57
Figura 25 - Gráficos dos pesos bruto (A) e relativo (B) do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias.....	57
Figura 26 - Gráfico do trânsito do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias.....	58
Figura 27 - Gráfico do enteropooling dos filhotes machos de 30 dias.	58
Figura 28 - Gráficos da espessura total (A) e espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do duodeno dos filhotes machos de 30 dias.	59
Figura 29 - Gráficos da espessura total (A) e espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do jejuno dos filhotes machos de 30 dias.	60
Figura 30 - Gráficos da espessura total (A) e espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do íleo dos filhotes machos de 30 dias.....	61

Figura 31 - Gráficos da área da mucosa do duodeno (A), jejuno (B) e íleo (C) dos filhotes machos de 30 dias.....	62
Figura 32 - Gráficos do número de vilosidades/área do duodeno (A), jejuno (B) e íleo (C) dos filhotes machos de 30 dias.....	63
Figura 33 - Gráfico do trânsito colônico distal dos filhotes machos de 30 dias.....	64
Figura 34 - Gráficos da espessura total (A) e das espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do ceco dos filhotes machos de 30 dias.....	65
Figura 35 - Gráficos da espessura total (A) e das espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do cólon dos filhotes machos de 30 dias.	66
Figura 36 - Gráficos da espessura total (A) e das espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do reto dos filhotes machos de 30 dias.....	67
Figura 37 - Gráficos dos pesos corporal (A) e do tecido adiposo seco (B) dos filhotes fêmeas de 120 dias.	68
Figura 38 - Tecido adiposo após ressecção e secagem na estufa à 45°C por 24 horas.	68
Figura 39 - Gráficos do índice de Lee (A) e da glicemia (B) dos filhotes fêmeas de 120 dias.	68
Figura 40 - Gráficos dos níveis plasmáticos de colesterol total (A) e triglicerídeos (B) dos filhotes fêmeas de 120 dias.....	69
Figura 41 - Gráficos das pressões arterial média (A), sistólica (B), diastólica (C), e pulsátil (D) dos filhotes fêmeas de 120 dias.	70
Figura 42 - Gráfico da frequência cardíaca dos filhotes fêmeas de 120 dias.	70
Figura 43 - Gráfico do peso relativo dos rins dos filhotes fêmeas de 120 dias.....	71
Figura 44 - Gráficos da creatinina plasmática (A), da taxa de filtração glomerular (TFG) (B) e da excreção urinária de proteína (EUP) dos filhotes fêmeas de 120 dias.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
CA	Circunferência Abdominal
CEUA/UFU	Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Uberlândia
DEFIS	Departamento de Fisiologia
DM	Diabetes Mellitus
DOHaD	Hipótese das Origens do Desenvolvimento da Saúde e das Doenças
DRC	Doença renal crônica
EEI	Esfíncter Esofágico Inferior
EGIR	Grupo Europeu de Estudo da Resistência Insulínica
EPM	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
GIG	Grandes para idade gestacional
HCl	Ácido clorídrico
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HE	Hematoxilina-Eosina
HIF1 α	Fator 1-alfa indutível por hipóxia
IC	Intestino cheio
ICBIM	Instituto de Ciências Biomédicas
ID	Intestino Delgado
IDF	Federação Internacional de Diabetes
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina
IL6	Interleucina 6
IMC	Grandes para idade gestacional
IP	Intraperitoneal
IU	Índice de úlcera
IV	Intestino vazio
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LGA	Grandes para idade gestacional

mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
NCEP ATP III	Programa Nacional de Educação sobre Colesterol – Painei de Tratamento de Adultos III
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAP	Pressão arterial pulsátil
PAS	Pressão arterial sistólica
PC	Peso Corporal
PCNA	Antígeno celular proliferativo nuclear (Proliferative nuclear cell antigen)
PCR	Proteína C Reativa
PE	Peso Estômago
PGE2	Prostaglandina E2
PI	Peso Intestinal
POMC	Pró-opiomelanocortina
Ppargc1 α	Coativador 1-alfa do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma
PVPI	Polivinil-pirrolidona
RCIU	Restrição de crescimento intrauterino
RGE	Refluxo gastroesofágico
SGA	Pequeno para idade gestacional
SNE	Sistema nervoso entérico
TFG	Taxa de filtração glomerular
TG	Triglicerídeos
TGF β	Fator de necrose tumoral - beta
TGI	Trato gastrointestinal
TNF α	Fator de necrose tumoral - alfa
TTOC	Tempo de trânsito orocecal
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
WHO	Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1. Programação fetal	19
2.2. Transição nutricional, epidemiologia da obesidade e suas potenciais repercussões	22
2.3. Pesquisa com modelos animais.....	25
2.4. Aspectos relacionados ao Sistema Digestório	26
2.4.1 Anatomia Funcional	29
2.4.2 Organização Morfológica.....	31
2.5. Aspectos relacionados ao Sistema Renal.....	36
2.6. Aspectos relacionados à Síndrome Metabólica	37
3. OBJETIVOS.....	40
3.1-Objetivo Geral	40
3.2- Objetivos Específicos	40
4. MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Animais.....	41
4.2 Composição das Rações.....	42
4.3 Testes de Função Gastrintestinal	43
4.3.1 Avaliação da motilidade gastrintestinal utilizando o modelo do trânsito do carvão ativado	43
4.3.2 Avaliação do acúmulo de líquido intestinal (enteropooling) produzido pelo óleo de ricino.....	44
4.3.3 Estudo da motilidade do cólon distal	44
4.3.4 Avaliação da susceptibilidade à úlcera gástrica	44
4.4 Avaliação Morfométrica do Sistema Gastrintestinal	45
4.5 Determinação da Pressão Arterial.....	47
4.6 Determinação de Lipídios séricos e Glicemia	49
4.7 Testes Funcionais do Sistema Renal.....	50
4.8 Parâmetros associados à obesidade.....	50
4.9 Análise Estatística.....	51
5. RESULTADOS	52
5.1 Dados maternos.....	52
5.2 Dados da Prole	54
5.2.1 Dados Gastrintestinais	54
5.2.2 Dados Metabólicos	67

6. DISCUSSÃO	73
7. CONCLUSÃO.....	81
8. REFERÊNCIAS	82
ANEXO	95

1. INTRODUÇÃO

A programação fetal (*fetal programming*) é um processo resultante de estímulos adversos apresentados às mães, durante a gestação, que envolve uma complexa rede de regulação gênica, promovendo alterações permanentes na estrutura e função tecidual do feto, modulando a funcionalidade de tecidos-alvo metabolicamente ativos, de modo a afetar o seu desempenho e adaptação a desafios metabólicos (BURGUENO et al, 2013).

Nesse sentido, a programação fetal, atualmente conhecida como hipótese das Origens do Desenvolvimento da Saúde e das Doenças (DOHaD), pode predispor as pessoas a certas doenças ao longo da vida adulta, tornando esse âmbito de pesquisa essencial, visto que a gestação e lactação são períodos críticos em que o feto está em intenso crescimento e desenvolvimento. Entretanto, o mecanismo para a programação fetal de doenças na idade adulta permanece como uma hipótese, não havendo ainda compreensão suficiente sobre o seu estabelecimento. (KWON e KIM, 2017).

Pensando que, atualmente, o estilo de vida dos indivíduos, frequentemente os expõe a uma dieta excessivamente rica em gorduras, começaram a surgir questionamentos se tal dieta durante a gestação poderia, também, causar impactos à saúde do feto em desenvolvimento, aumentando os riscos de doenças metabólicas quando adulto (MARIE-STÉPHANIE CLERGET-FROIDEVAUX, 2017). Com isso, em coincidência com a alarmante epidemia da obesidade materna, aumentou-se o interesse em pesquisar o impacto do ambiente intrauterino no crescimento e desenvolvimento fetal (GLUCKMAN et al, 2008).

Em 2012, JACKSON e colaboradores, em uma pesquisa com ratos *Sprague-Dawley*, cujo objetivo foi testar a hipótese de que uma combinação de uma dieta rica em gordura e frutose nas fases pré e pós-natal iria agravar a lesão renal e metabólica na prole, verificaram que a hipernutrição, tanto no útero quanto após o nascimento, teve profundos efeitos sobre a saúde renal e metabólica na vida adulta dos filhotes. Outras evidências demonstraram que a exposição a um ambiente intrauterino obesogênico provocou modificações epigenéticas, aumentando a suscetibilidade à diabetes tipo 2 e hipertensão arterial sistêmica nos filhotes (GANU et al, 2012; ROSS e DESAI, 2013). Há ainda pesquisas que mencionam estudos epidemiológicos mostrando associações entre eventos patológicos ocorridos no início da vida e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e metabólicas (SARTORI et al, 2016).

Diante das elevadas e crescentes taxas de sobrepeso e obesidade entre as mulheres em idade reprodutiva e ao elevado consumo mundial de dietas ricas em gorduras, nota-se que as futuras gerações continuarão em risco de morbidades. Portanto, é crucial elucidar os fundamentos fisiológicos e moleculares envolvidos na programação, sendo que, para isso, os

modelos animais representam grandes aliados, possibilitando ao pesquisador maior controle das variáveis de estudo, fornecendo respostas esclarecedoras em um período relativamente rápido (RABADÁN-DIEHL et al, 2013).

Dessa forma, esse trabalho buscou identificar as alterações gastrointestinais e metabólicas na prole de mães que consumiram dieta hiperlipídica, com diferentes teores de lipídeos, durante a gestação e amamentação. Isso se faz relevante, uma vez que não foram encontrados na literatura trabalhos que relacionam a exposição à dieta hiperlipídica materna e suas repercussões para a função e morfometria gastrintestinal para a prole.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Programação fetal

Durante a gestação, o feto em desenvolvimento depende inteiramente da mãe e do ambiente materno para atender as suas necessidades energéticas e nutricionais. O desenvolvimento embrionário e fetal consiste em um período crítico, pois são fases de rápida diferenciação celular, crescimento, desenvolvimento e maturação de órgãos. Sabendo disso, a nutrição nesses ciclos é determinante para as funções fisiológicas e metabólicas ao longo da vida. Em 1998, o epidemiologista BARKER correlacionando eventos que ocorrem nas duas extremidades da vida, afirmou que alterações programadas durante o período crítico de desenvolvimento fetal predis põem o feto a algumas doenças na vida adulta.

Essencialmente, a programação fetal consiste no fato que estímulos adversos apresentados às mães durante a gestação podem redirecionar vias de desenvolvimento e alterar de modo permanente a estrutura e função tecidual do feto (CHAVATTE-PALMER; TARRADE; ROUSSEAU-RALLIARD, 2016; DRAKE e WALKER, 2004; GUILLOTEAU et al, 2010). Com isso, o feto é programado para mostrar efeitos consequentes mesmo depois de muito tempo da remoção do efeito estressor.

Estudos demonstraram que a desnutrição materna pode ser traduzida em alterações patológicas que determinam futuras doenças na prole adulta, tais como aumentos na pressão arterial, alterações no metabolismo de colesterol, na resposta insulínica à glicose, e outras funções metabólicas, endócrinas e imunológicas importantes para a fisiopatologia das doenças (BARKER, 1993; BARKER, 1998; LUCAS, 1991). Outro estudo fornecido por *Dutch Famine Birth Cohort Study* identificou relações entre desnutrição na gravidez e ou no ambiente pós-natal, e fenótipos relacionados ao sobrepeso ou obesidade na vida adulta (KYLE e PICHARD, 2006). Inicialmente, acreditava-se que as consequências patológicas estavam associadas restritamente ao retardo de crescimento intrauterino e baixo peso ao nascer. No entanto, logo ficou evidente que este não era o parâmetro mais informativo, visto que as mesmas consequências podiam ser observadas em filhos com peso ao nascimento dentro da faixa de normalidade (GLUCKMAN; HARDING, 1997).

Historicamente, os estudos se concentravam nos efeitos resultantes de desnutrição e das deficiências nutricionais em que o feto era exposto ainda no útero. Embora a desnutrição materna continue a ser um problema em alguns países, o sobrepeso e obesidade vêm ganhando espaço mundial, representando um grande desafio para a saúde pública (JEHN e BREWIS, 2009). Existem evidências demonstrando que o excesso de peso durante a gestação, oferecendo

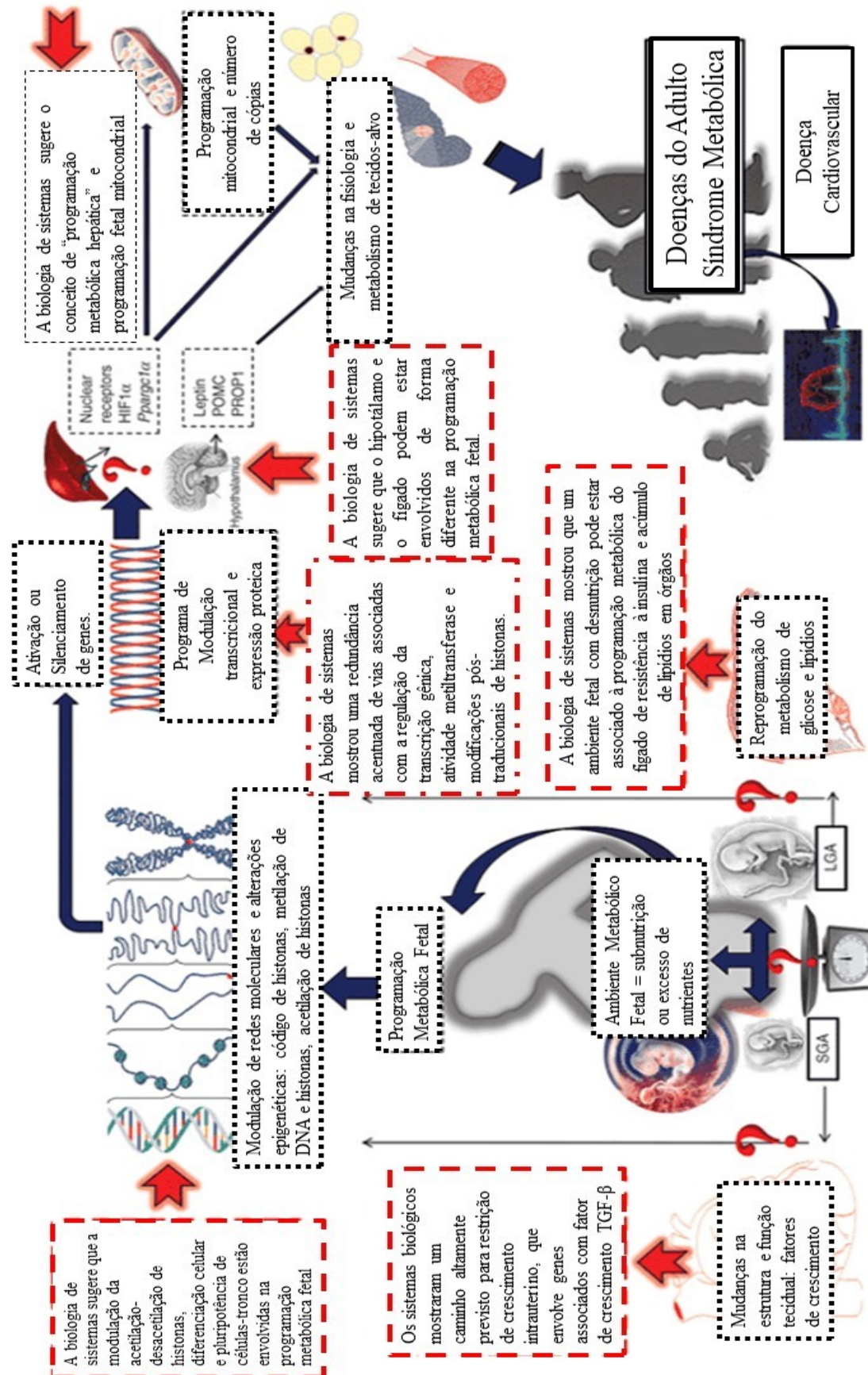
uma nutrição inadequada na vida intrauterina, possui impacto significativo sobre o metabolismo dos macronutrientes, alterando o processo de homeostase da glicose, oxidação dos lipídios e síntese de aminoácidos (SEABRA et al, 2011), e ainda, pode ser associado ao aumento da suscetibilidade individual às complicações perinatais, comprometimento do número de células e aumento do risco de desenvolvimento de síndrome metabólica e outras doenças crônicas na vida adulta (DODD et al, 2010; TANAKA, 1981).

Outros estudos ainda relacionam a obesidade materna com a epidemia de obesidade infantil e distúrbios metabólicos na infância (ARMITAGE et al. 2008; HEERWAGEN et al 2010); além de aumento de massa de tecido adiposo e aumento do número de recém-nascidos grandes para idade gestacional (GIG), e consequente aumento do risco de obesidade e diabetes na vida adulta (ARMITAGE et al. 2008 ; SCHELLONG et al. 2012 ; SPARANO et al. 2013); resultados adversos do desenvolvimento neurológico em crianças, incluindo capacidade cognitivas globais baixas (VAN LIESHOUT et al. 2011 ; TANDA et al. 2012); aumento da incidência de transtornos do espectro autista e atraso no desenvolvimento (HINKLE et al. 2012 ; KRAKOWIAK et al. 2012); aumento do transtorno do déficit de atenção e hiperatividade, ansiedade e outros transtornos psiquiátricos (RODRIGUEZ et al. 2008); além de aumento da incidência de paralisia cerebral (AHLIN et al. 2013 ; CRISHAM JANIK et al. 2013 ; MEHTA et al. 2014 ; PAN et al. 2014).

Existem outras alterações responsáveis por conferir ao ambiente intrauterino efeitos adversos levando a prejuízos potenciais ao feto, tais como tabagismo, consumo de álcool, abuso de drogas, estresse emocional, exposição a produtos químicos (ambientais ou médicos), agentes infecciosos, diabetes e demais distúrbios endócrinos (CHEONG et al, 2016; SECKL, 2004; MARIE-STÉPHANIE CLERGET-FROIDEVAUX, 2017), entre outros. Percebe-se, portanto, que a programação fetal tem um impacto negativo na saúde fetal e futura do indivíduo, em que condições no início da vida (pré-concepção, período intrauterino, e período perinatal) influenciam a saúde a curto e longo prazos. Dessa forma, é essencial a compreensão do seu papel e quais mecanismos estão envolvidos nesse processo.

Atualmente, os mecanismos biomoleculares envolvidos na programação fetal ainda não estão totalmente elucidados, porém algumas hipóteses são propostas. A **figura 1** resume os possíveis mecanismos que relacionam a disponibilidade prejudicada de nutrientes durante o período fetal com doenças crônicas da vida adulta, como distúrbios metabólicos e cardiovasculares, incluindo doença cardíaca coronariana, diabetes tipo 2 e resistência à insulina (SOOKOIAN et al, 2013).

Figura 1- Supostos mecanismos moleculares ligados à programação fetal.



Fonte: Traduzido de SOOKOIAN et al, 2013.

Assim, observa-se através da literatura que insultos ambientais induzem modificações moleculares complexas sem alterações na sequência genômica, mas com atuação na expressão gênica, sendo essas alterações conhecidas como modificações epigenéticas (MARIE-STÉPHANIE CLERGET-FROIDEVAUX, 2017). Essas são capazes de criar marcas no fenótipo, como a metilação do DNA e ou modificações covalentes de histonas pós-tradução, sem alteração propriamente ditas da sequência do DNA, que medeiam fenômenos como o *imprinting* genômico e o remodelamento da cromatina, e surgem como a explicação molecular mais adequada para a programação metabólica fetal (SOOKOIAN et al, 2013; GABORY, ATTIG, JUNIEN, 2011; DRAKE e WALKER, 2004; TARRADE et al, 2015; KWON e KIM, 2017).

SEKI e colaboradores, em 2017 realizaram a expressão gênica e análise da metilação do DNA genômico de fígado de camundongos, filhos de mães que foram submetidas ou não à oferta de uma dieta hiperlipídica durante a gestação. Em primeiro lugar, identificaram que o ambiente intrauterino alterado com a oferta excessiva de gorduras, induz modificações epigenéticas relacionadas com a expressão de genes envolvidos na resposta imune, inflamação e disfunção hepática. Em segundo lugar, a metilação do DNA hepático da prole está aumentada em pontos específicos do genoma, que estão associados a uma maior suscetibilidade à aterosclerose e resistência à insulina. Além disso, a maioria dos genes que tem a sua expressão modificada por alterações da metilação do DNA hepático dos filhotes estava associada ao desenvolvimento e funcionamento do sistema cardiovascular, bem como às vias de sinalização celular associadas às doenças metabólicas (diabetes e hipertensão arterial). Os resultados deste estudo demonstram a importância do impacto nutricional intrauterino no desenvolvimento de doenças metabólicas mais tarde na vida, e que a metilação do DNA parece ser a base molecular epigenética dessa maior suscetibilidade (SEKI et al, 2017).

Finalmente, é importante destacar que as marcas epigenéticas impostas ao genoma, controlando a expressão gênica, induzidas por perturbações de um ambiente intrauterino adverso, podem aguardar um segundo estímulo para revelar a suscetibilidade que foi previamente adquirida e ainda, que as gerações subsequentes também podem ser afetadas (MARIE-STÉPHANIE CLERGET-FROIDEVAUX, 2017).

2.2. Transição nutricional, epidemiologia da obesidade e suas potenciais repercussões

Há mais de 12 mil anos era rotineiro que os nossos ancestrais caçadores-coletores migrassem para aproveitar a disponibilidade sazonal de alimentos vegetais e provenientes de animais silvestres. Com o surgimento da agricultura há aproximadamente 10 mil anos, o homem

assumiu um papel mais ativo na produção de alimentos, criando plantas e animais, e produzindo seu próprio alimento, abrindo caminho para grandes modificações socioculturais e para o surgimento e desenvolvimento da ciência, tecnologia e medicina. No entanto, juntamente com o avançar da tecnologia da indústria alimentícia (práticas agrícolas, colheita, processamento, preservação e distribuição de alimentos) surgiu uma das maiores ameaças do mundo moderno: a obesidade (PACE e CROWE, 2016).

O estado nutricional adequado é resultado do equilíbrio entre o consumo de nutrientes e o gasto energético do organismo para suprir as necessidades diárias (PAIVA *et al.*, 2012). A obesidade é uma doença crônica, caracterizada pelo excesso de gordura corporal, resultante do desequilíbrio desses fatores, bem como alterações no metabolismo de carboidratos e lipídeos, levando a inúmeros prejuízos à qualidade de vida do indivíduo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000; TANAKA, 1981).

PACE e CROWE (2016) reforçam que a combinação da tecnologia avançada de processamento e preservação de alimentos com a entrada das mulheres no mercado de trabalho fora de casa, criou um ambiente no qual o preparo de alimentos dentro de casa diminuiu significativamente. Com isso, ao longo dos últimos séculos, os países desenvolvidos foram se afastando da alimentação tradicional, baseada principalmente em cereais, tubérculos e vegetais, declinando para o consumo desenfreado de alimentos ultraprocessados, ricos em gorduras, açúcares e cada vez menos ricos em fibras alimentares, micronutrientes e compostos bioativos (BERNARD *et al.*, 2002).

Está claro que esse padrão alimentar, especialmente em uma sociedade onde a comida é abundante e a atividade física diminuiu substancialmente, justifica, pelo menos em parte, as crescentes taxas de sobrepeso e obesidade. Embora, existam algumas evidências sugerindo que mutações em genes específicos envolvidos no controle metabólico, incluindo os genes relacionados à leptina e seu receptor, também podem resultar em obesidade mórbida, muitos casos de obesidade não podem ser explicados por excesso calórico, sedentarismo e ou causas genéticas. Um número significativo de estudos relevantes demonstra que a vida intrauterina e perinatal pode afetar o metabolismo na vida adulta, em que dietas desequilibradas durante a gestação podem programar o desenvolvimento de obesidade e outros distúrbios metabólicos mais tarde na vida (MARIE-STÉPHANIE CLERGET-FROIDEVAUX, 2017).

As preocupações em torno da obesidade se intensificaram, visto que segundo a Organização Mundial de Saúde mais de 1,4 bilhão de pessoas (~33%) em todo mundo se encontram obesas (WHO, 2013). Além disso, de acordo com KELLY e colaboradores (2008),

a previsão é de que, até 2030, quase 60% da população adulta mundial (~3,3 bilhões) estará com sobrepeso ou obesidade.

Em 2011-2012, aproximadamente 68,5% dos adultos nos Estados Unidos, estava acima do peso ou apresentava obesidade (OGDEN et al, 2014). No Brasil, segundo SÁ e MOURA (2011) a prevalência de excesso de peso, em 2008, era de 39,7%. Quatro anos mais tarde, a pesquisa Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel), realizada pelo Ministério da Saúde revelou que 51% da população (maiores de 18 anos) estava acima do peso ideal, e 17% já se encontrava obesa (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Nos Estados Unidos, mais de 60% das mulheres em idade reprodutiva apresentam sobrepeso no momento da concepção, sendo mais de 1/3 obesas, com um aumento de 70% de obesidade pré-gestacional nas últimas décadas (CATALANO e EHRENBURG, 2006 ; KIM et al., 2007 ; FLEGAL et al, 2012). No Brasil, há cerca de 12 anos, a prevalência de excesso de peso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) entre as mulheres que já era alta, sendo 38,8%, aumentou, em 2012, para 48%. Esses resultados enfatizam o fato de que as crianças estão expostas a um ambiente de sobrepeso e obesidade, conferindo uma elevada probabilidade de hiperalimentação materna, com dieta supercalórica e ou ricas em gorduras, durante os principais períodos de desenvolvimento perinatal (NERI e EDLOW, 2015).

As alterações patológicas que se agrupam na síndrome metabólica, incluindo diabetes, hipertensão arterial e dislipidemias, estão frequentemente associadas à obesidade (MARIE-STÉPHANIE CLERGET-FROIDEVAUX, 2017). Além disso, as elevadas e crescentes taxas de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer podem ser correlacionados diretamente com obesidade (PACE e CROWE, 2016).

A obesidade associada a outras doenças, principalmente hipertensão e diabetes pode afetar os rins (HOSSAIN; KAWAR; EL NAHAS, 2007), que são órgãos responsáveis por inúmeras funções importantes para o bom funcionamento orgânico. SAVINO *et al.* (2010) revelam evidências de que o excesso de peso, em adultos, está associado com um risco aumentado de desenvolvimento de doença renal.

Atualmente, os estudos avançaram no que diz respeito à alimentação desequilibrada fornecendo uma oferta calórica e nutricional exagerada, principalmente de gorduras, refletindo, deste modo, os hábitos alimentares da sociedade ocidental. Estudos realizados com seres humanos possibilitaram identificar a relação entre hiperalimentação materna e os riscos aumentados de obesidade, diabetes e demais complicações nos filhos (CHARLTON, 2004; TENENBAUM-GAVISH e HOD, 2013; LEDDY; POWER; SCHULKIN, 2008; WHITAKER

et al, 1997). Já em modelos animais, filhotes de ratas expostas às dietas modificadas com excesso de gorduras durante a gravidez, apresentaram crescimento acelerado, excesso de adiposidade corporal, intolerância à glicose, sensibilidade à insulina prejudicada, além de disfunção hepática (AINGE et al, 2011; ALFARADHI e OZANNE, 2011; WILLIAMS et al, 2014; MASUYAMA e HIRAMATSU, 2012; ORNELLAS et al, 2015).

É essencial destacar que a nutrição desequilibrada durante a gestação promove repercussões à prole, independentemente do desenvolvimento de obesidade materna (ZAMBRANO et al, 2010). Além disso, XU et al (2018) hipotetizou, em um modelo murino, que a transição de uma dieta hiperlipídica para uma dieta normolipídica antes do período de gravidez poderia reduzir o risco de obesidade e suas complicações na prole. Para testar sua hipótese, foram utilizadas estratégias referentes a 3 tipos de duração de transição (1, 5 e 9 semanas antes da gravidez). Os achados deste estudo em conjunto sugerem que para reverter os efeitos adversos para a prole exposta à dieta hiperlipídica no ambiente intrauterino, é necessário um longo período de transição entre dieta hiperlipídica e normolipídica (9 semanas ou mais para os camundongos, correspondendo há aproximadamente 7 anos na vida humana, DUTTA e SENGUPTA, 2016).

Embora existam alguns estudos demonstrando que transições de dieta materna de curto (1 semana) e médio (5 semanas) prazos além de não serem benéficas para a saúde da prole, podem torná-la mais sensível à dieta pós-natal, com risco de início precoce de intolerância à glicose, excesso de adiposidade gonadal e degeneração de hepatócitos (AAGAARD-TILLERY et al, 2008; XU et al, 2018). Outros pesquisadores observaram uma redução da prevalência de obesidade, com melhora dos parâmetros metabólicos (menor adiposidade, menores taxas de lipídios séricos, pressão arterial mais baixa, maior sensibilidade à insulina) em crianças nascidas após cirurgia bariátrica (by-pass gástrico) quando comparadas aos seus irmãos nascidos antes da cirurgia (KRAL et al. 2006 ; SMITH et al., 2009 ; BARISIONE et al., 2012). Esses achados podem estar relacionados com uma mudança no ambiente intrauterino, devido à melhora na obesidade, perfil metabólico e comportamento alimentar (NERI e EDLOW, 2015).

2.3. Pesquisa com modelos animais

CHAVATTE-PALMER; TARRADE; ROUSSEAU-RALLIARD (2016) destacam que a maioria das evidências epidemiológicas de grandes estudos de coorte apoia o conceito de que o ambiente materno tem um papel essencialmente importante na determinação da saúde e do metabolismo de longo prazo da sua descendência.

Nesse âmbito, o uso de modelos animais atua como consequência de considerações éticas óbvias acerca do que é viável ou inviável no campo de pesquisa biomédica humana, tendo uma importância crítica, possibilitando o estudo dos efeitos de diferentes tipos de condições e/ou estado metabólico maternos (subnutrição, obesidade, diabetes, exposição a poluentes, estresse, entre outros) e contribuindo para a exploração dos mecanismos que levam à Origem e Desenvolvimento da Saúde e da Doença, de modo a permitir o esclarecimento de janelas críticas de desenvolvimento que vão desde a pré-concepção à vida adulta (CHAVATTE-PALMER; TARRADE; ROUSSEAU-RALLIARD, 2016).

Um número considerável de estudos demonstra o uso de vários modelos animais para estudar a relação da nutrição materna e seu efeito no desenvolvimento fetal (MCARDLE et al, 2006). Além disso, a escolha do modelo animal em detrimento de outro é essencial, e dependente do delineamento experimental, e principalmente da sua semelhança com o ser humano, uma vez que a fisiologia comparativa é uma abordagem muito significativa que possibilita e conduz, pelo menos em parte, a tradução do desenvolvimento e predisposição de doenças do modelo animal para o ser humano (CHAVATTE-PALMER; TARRADE; ROUSSEAU-RALLIARD, 2016; RABADÁN-DIEHL et al, 2013).

RABADÁN-DIEHL et al (2013) destacam que, embora os modelos animais apresentem limitações, particularmente no que diz respeito inclusive à extensão da tradução das descobertas específicas em diferentes espécies para o homem, visto que nenhum modelo expressa exatamente a situação humana, é de especial importância avaliar as vantagens e desvantagens de cada modelo.

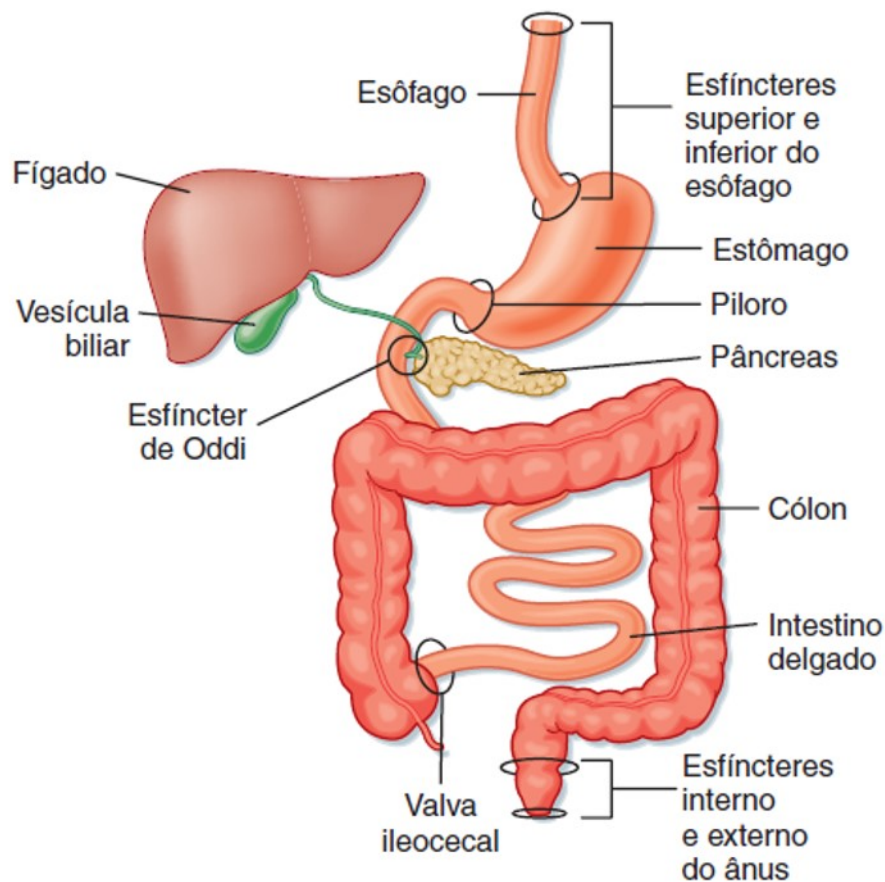
Pensando nisso, os roedores são excelentes modelos para se estudar a programação fetal, pois o que, para algumas pesquisas é uma limitação, como a duração muito curta da gestação e lactação (21 a 23 dias em ambos os casos), para esse tipo de estudo é uma vantagem, pois torna possível uma avaliação longitudinal da prole, que pode ser considerada adulta a partir dos 90 dias de idade (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009). Além disso, devido a sua semelhança em termos de anatomia, fisiologia e metabolismo, com o ser humano, os roedores (ratos e camundongos) são modelos eficazes para o estudo dos caminhos mecanicistas, tornando possível a realização de manipulações genéticas complexas, além de serem os modelos mais eticamente aceitos, de baixo custo e fácil manuseio, sendo ainda eficientes em termos de tempo e custo (CHAVATTE-PALMER; TARRADE; ROUSSEAU-RALLIARD, 2016; RABADÁN-DIEHL et al, 2013).

2.4. Aspectos relacionados ao Sistema Digestório

O Sistema Digestório consiste em um tubo longo que estabelece o contato do corpo ao ambiente externo, se estendendo da boca até o ânus, sendo compreendido ainda por órgãos glandulares acessórios que lançam seu conteúdo na luz desse tubo (**figura 2**). Por meio de cinco processos fisiológicos, a saber, motilidade, secreção, digestão, absorção e excreção, o Trato Gastrointestinal (TGI) realiza o abastecimento do organismo com suprimento contínuo de água, eletrólitos e nutrientes, além de eliminar produtos residuais resultantes da digestão dos alimentos ingeridos e de produtos do metabolismo endógeno (BERNE e LEVY, 2018; GUYTON e HALL, 2017).

A motilidade é essencial para deslocar o alimento ao longo do trato e misturá-lo às secreções, produzidas pelo TGI e pelos órgãos associados, além de promover quebra física do alimento, em favor da digestão, que consiste na modificação química desses alimentos, para que finalmente possa ocorrer a absorção dos nutrientes pelas células do epitélio intestinal, e estes possam atingir a circulação e serem distribuídos para o restante do organismo (BERNE e LEVY, 2018).

Figura 2- Anatomia geral do trato gastrointestinal e suas divisões em segmentos funcionais.



Fonte: BERNE e LEVY, 2018.

Considerando seu papel contribuinte para a saciedade, produção de incretinas (peptídeo semelhante ao glucagon) e hormônios influenciadores do apetite (como grelina, colecistoquinina e peptídeo YY), seu impacto na glicemia pós-prandial, na absorção de nutrientes que determinam o balanço energético positivo (podendo resultar em obesidade), nas alterações no Microbioma e de seus produtos metabólicos, o TGI tem uma atribuição fundamental na obesidade (CAMILLERI; MALHI; ACOSTA, 2017). Nesse sentido, os gastroenterologistas vêm demonstrando um interesse acentuado pelo estudo dessa doença, tendo em vista a longa lista de anormalidades e distúrbios gastrintestinais que a obesidade pode provocar, tais como doença do refluxo gastroesofágico (RGE), adenocarcinoma gastroesofágico, câncer gástrico e intestinal, doença diverticular colônica, pólipos, doença hepática gordurosa não alcoólica, pancreatite, cálculos biliares, entre outros (HANS-RUDOLF e KLEIN, 2017).

De acordo com ESLICK (2012), embora a relação entre a obesidade e os sintomas gastrintestinais ainda permaneça pouco compreendida, nos últimos anos uma série de estudos foram realizados na tentativa de determinar a frequência desses sintomas entre indivíduos com os mais variados Índices de Massa Corporal (IMC).

PICKETT-BLAKELY; UWAKWE; RASHID (2016) relatam que a adiposidade abdominal, frequentemente associada à obesidade, provoca aumento da pressão abdominal, que por sua vez é um dos contribuintes para a ocorrência de Refluxo Gastroesofágico (RGE). Além disso, BOYLAN e colaboradores (2014) observaram que a adiposidade visceral, medida através da relação cintura-quadril, de homens profissionais de saúde, teve relação com o risco de úlcera gástrica, sendo essa associação independente da lesão provocada por uso de antiinflamatórios ou infecção por *H. pylori*.

Existem ainda estudos que demonstram a obesidade como fator de risco para a gastrite e úlceras gástricas, possivelmente relacionando com alterações na fisiologia e regulação neuro-hormonal gástricas durante essa condição clínica (CAMILLERI, 2015; YAMAMOTO; WATABE; TAKEHARA, 2012; KIM et al, 2007). Adicionalmente, CATHELINE (2012) em um estudo realizado com pacientes elegíveis para cirurgia bariátrica, encontrou uma prevalência de 90% de distúrbios gastrintestinais funcionais.

Mediante o exposto, é evidente o impacto das doenças gastrintestinais nos aspectos clínicos, subjacente à necessidade de intervenções eficazes, terapêuticas ou preventivas. Além disso, é importante reconhecer que o aumento do IMC, e principalmente da adiposidade abdominal desempenham papel significativo no desenvolvimento das morbidades

gastrintestinais. Além disso, vale destacar que surpreendentemente, não é comum encontrar estudos que avaliem os sintomas gastrintestinais relacionando-os ao aumento do consumo de alimentos e/ou nutrientes específicos.

2.4.1 Anatomia Funcional

Embora a estrutura do TGI varie muito de uma região para outra, características comuns são preservadas em sua organização geral. Trata-se de um tubo oco, cujos principais segmentos funcionais, boca e faringe, esôfago, estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, reto e ânus (BERNE e LEVY, 2018), se adaptam para desempenhar funções específicas, que vão desde a simples passagem até armazenamento temporário do alimento, digestão e absorção (GUYTON e HALL, 2017).

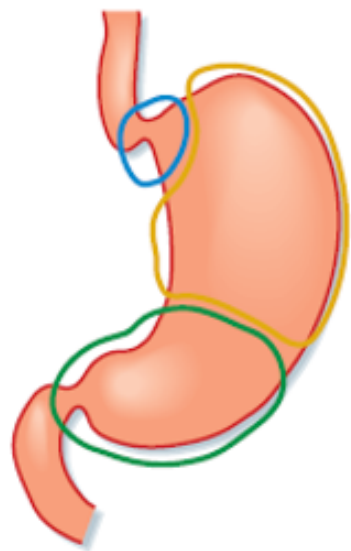
Em associação a esses segmentos, há estruturas glandulares que liberam suas secreções no lúmen gastrintestinal, servindo para duas funções primordiais. A primeira é a secreção de enzimas digestivas, desde a boca até a extremidade distal do íleo, enquanto a segunda, e não menos importante, é a secreção de muco, ao longo de todo o trato, que é responsável por lubrificar e proteger todas as partes do TGI. Além disso, há ainda a presença de órgãos glandulares anexos a esse sistema, tais como glândulas salivares, vesícula biliar, fígado e pâncreas (BERNE e LEVY, 2018; GUYTON e HALL, 2017).

O estômago é um importante órgão de armazenamento do alimento processado e exibe uma anatomia funcional especializada que o torna capaz de realizar essa função eficientemente. Sendo assim, possui uma divisão funcional que, segundo BERNE e LEVY (2018), é representada por três regiões: região do Esfíncter Esofágico Inferior (EEI) e Cárdia, região do fundo e corpo e, por fim região antropilórica (**figura 3**), que se distinguem por suas secreções e padrão de motilidade. Sabendo disso, é importante destacar, que é a produção de lentas variações de tônus da região do fundo e corpo que os tornam elegíveis para a função de reservatório. Além disso, na região antropilórica a musculatura é mais espessa, garantindo contrações mais vigorosas que o torna capaz de realizar a retropropulsão, triturando o alimento e misturando-o às secreções gástricas (BERNE e LEVY, 2018; GUYTON e HALL, 2017).

Além de atuar como reservatório temporário para o alimento, o estômago também garante o início da digestão proteica, por meio da secreção ácida e conversão do pepsinogênio em sua forma ativa (pepsina); regula finamente o esvaziamento gástrico, através de sua atividade motora, que tem ainda a função de promover o movimento que mistura o alimento às suas secreções (H⁺ e pepsina); além de secretar o fator intrínseco, responsável por promover a

absorção da vitamina B12 (cobalamina); muco e bicarbonato, para proteger a mucosa gástrica; e água para lubrificação provendo a suspensão aquosa dos nutrientes (BERNE e LEVY, 2018).

Figura 3 - Regiões funcionais do estômago.



Região	Secreção luminal	Motilidade
EEI* e cárdia	Muco e HCO_3^-	Prevenção do refluxo Entrada do alimento Regulação da eructação
*EEI é parte do esôfago		
Fundo e corpo	H^+ Fator intrínseco Muco HCO_3^- Pepsinogênios Lipase	Reservatório Força tônica durante o esvaziamento
Antro e píloro	Muco e HCO_3^-	Misturar Triturar Peneirar Regulação do esvaziamento

Fonte: BERNE e LEVY, 2018.

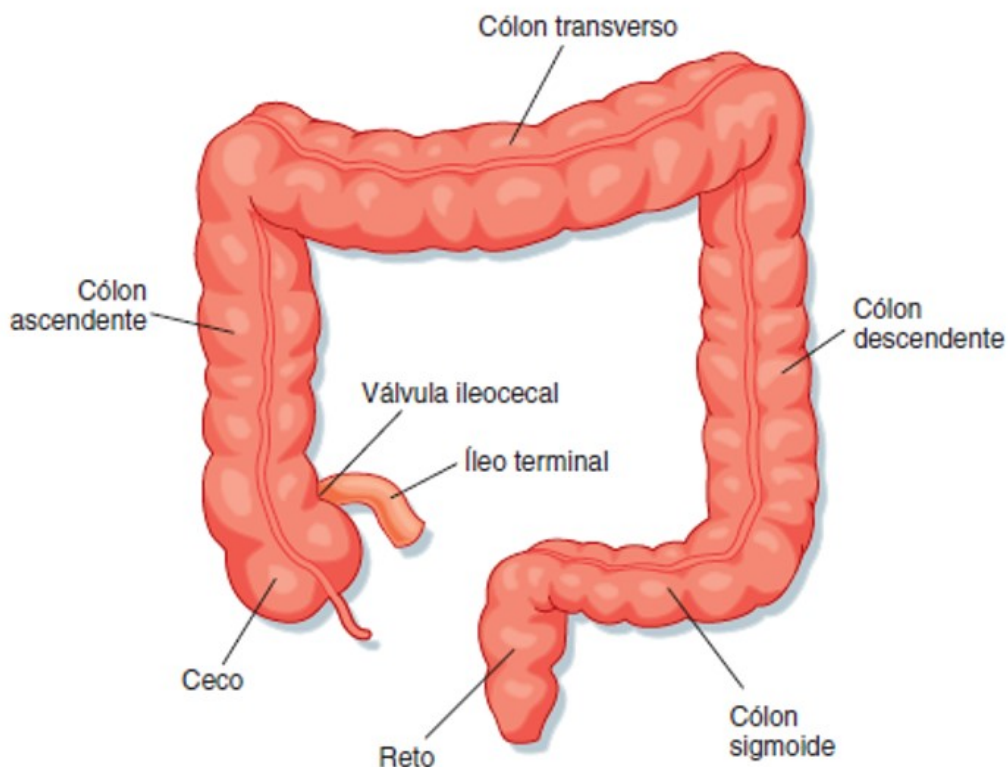
Já o intestino delgado (ID), com suas respectivas divisões (duodeno – 5%, jejuno – 35% e íleo – 60%) representa a porção mais crítica do TGI no que diz respeito à função de absorção nutricional (GUYTON e HALL, 2017). Esse órgão nada mais é, do que um tubo extenso que permanece enrolado na cavidade abdominal e que possui muitas especializações que permitem o perfeito desenvolvimento de suas funções. É devido às vilosidades (que são projeções da mucosa intestinal, consideradas a especialização mais conhecida desse órgão), que garantem uma grande área de superfície e ainda, por meio de sua motilidade, que promove a mistura adequada do alimento à diversas secreções (biliar e pancreática, por exemplo), que o intestino delgado é conhecido como o principal órgão absorptivo, realizando a absorção da maior parte dos produtos da digestão dos macronutrientes (BERNE e LEVY, 2018).

Embora não realize hidrólise enzimática dos nutrientes, por não possuir enzimas luminais ou borda em escova, o intestino grosso tem funções essenciais para a homeostase orgânica, tais como reabsorção de fluido remanescente, ou seja, absorção de água e eletrólitos, processo esse que, de modo consequente, proporciona a formação de fezes sólidas. Além disso, também tem a capacidade de armazenar os produtos que restam do processo digestivo, também

chamado de material fecal, até que possam ser convenientemente eliminados do organismo (BERNE e LEVY, 2018).

Segundo GUYTON e HALL (2017), a metade proximal do intestino grosso está envolvida primordialmente na função absorptiva, ao passo que a metade distal é responsável por armazenamento fecal. Para cada função, regiões específicas desse órgão trabalham mais ativamente e por isso, assim como os demais órgãos do TGI, também é subdividido em porções regionais, como: ceco, cólon e reto (**figura 4**).

Figura 4 - Subdivisões anatômicas do intestino grosso.



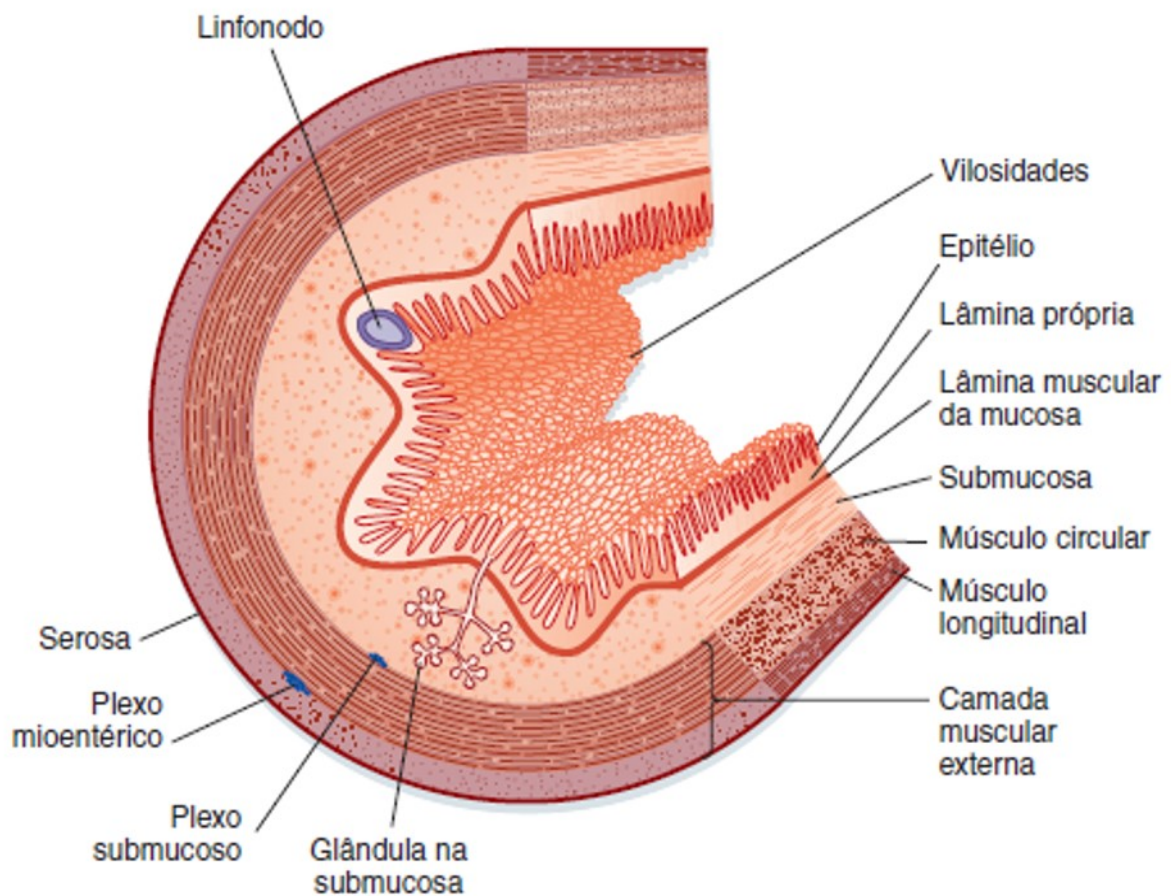
Fonte: BERNE e LEVY, 2018.

2.4.2 Organização Morfológica

Embora haja determinadas peculiaridades, todas as porções do TGI apresentam características estruturais comuns. Dessa forma, o TGI é compreendido por um tubo oco cuja parede, formada por quatro camadas distintas (de dentro para fora: mucosa, submucosa, muscular e serosa), circunda uma luz, ou lúmen, que possui diâmetro variado (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017). Por meio da **figura 5**, é possível identificar através de um corte transversal típico da parede intestinal, como se dá a organização geral das camadas que a compõem.

De maneira geral, a mucosa é composta por um revestimento epitelial; uma lâmina própria, constituída de tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos, bem como células musculares lisas, podendo ainda ser possível a identificação de glândulas e tecido linfoide; e uma camada muscular da mucosa, que tem o papel de separar a mucosa da camada submucosa (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

Figura 5 - Organização geral das camadas que compõem a parede do TGI.



Fonte: BERNE e LEVY, 2009.

Sendo constituída em grande parte por tecido conjuntivo frouxo, com fibrilas de colágeno e elastina, a camada seguinte é a submucosa, que é irrigada por muitos vasos sanguíneos e linfáticos de maior calibre, além de ser innervada por um plexo submucoso do sistema nervoso entérico, denominado plexo de Meissner. Além disso, essa camada também pode conter glândulas, provenientes de invaginações da mucosa, e tecido linfoide (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

Na sequência, está a camada muscular externa, que é responsável, de modo geral, pela função de motilidade, misturando e impulsionando o alimento ao longo do TGI. Essa camada está, geralmente, organizada em duas subcamadas substanciais de células musculares lisas, sendo que na subcamada mais interna, as fibras se orientam de modo concêntrico, enquanto que na mais externa, as fibras possuem orientação longitudinal ao tubo. Adicionalmente, entre as duas subcamadas musculares encontra-se outro plexo do sistema nervoso entérico, conhecido como plexo mioentérico de Auerbach que, juntamente com o plexo de Meissner, auxilia na integração das funções motoras e secretoras do TGI (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017; BERNE e LEVY, 2018).

Finalmente, na porção mais externa, está a camada conhecida como serosa ou adventícia, que consiste em um conjunto de células mesoteliais escamosas. Essa camada é formada por tecido conjuntivo frouxo, rico em vasos sanguíneos e linfáticos, além de tecido adiposo. A serosa reveste os órgãos, sendo denominada peritônio visceral, e está em continuidade com o mesentério, revestindo a superfície da parede abdominal e suspendendo os órgãos do TGI. Suas membranas secretam um líquido que tem o papel de lubrificar os órgãos abdominais, permitindo sua movimentação quando a camada muscular se contrai e relaxa (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017; BERNE e LEVY, 2018).

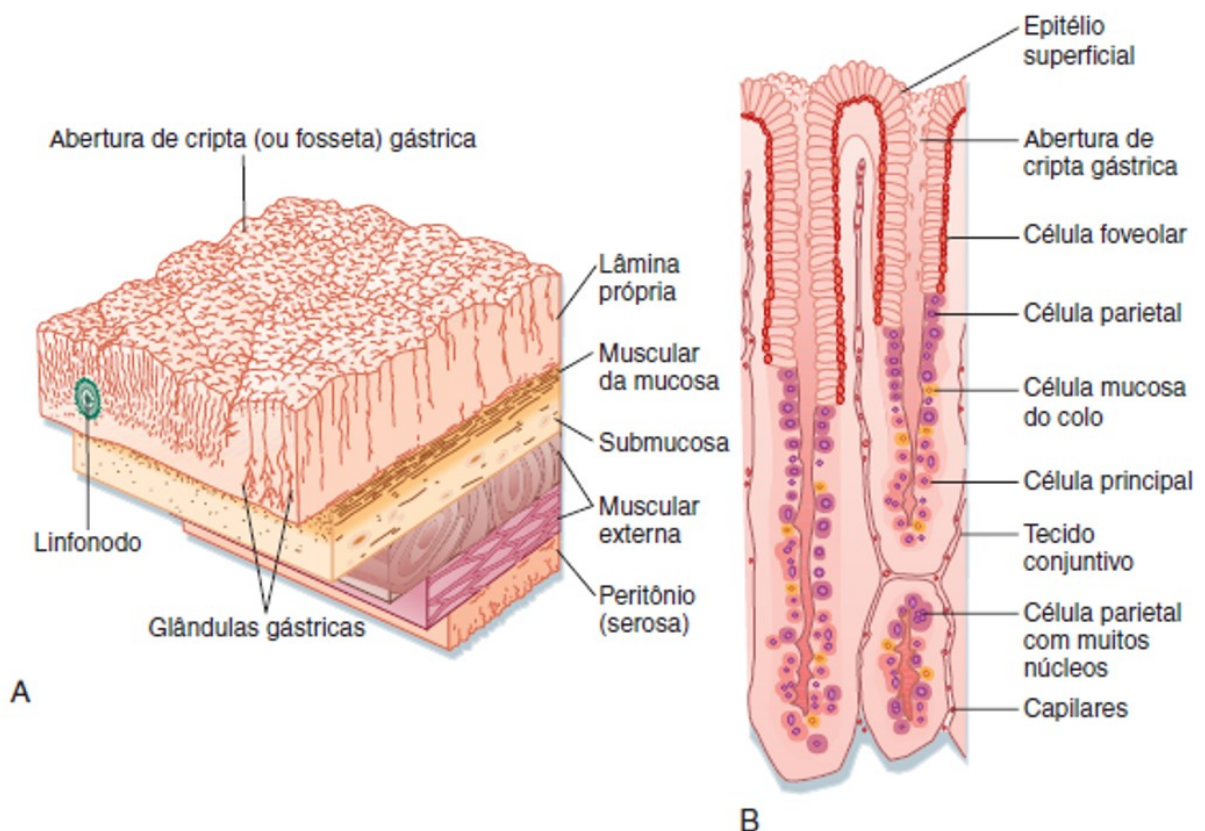
O estômago é um segmento dilatado do TGI que exerce funções exócrinas e endócrinas, digerindo o alimento e secretando hormônios. A camada mucosa gástrica é recoberta por um epitélio colunar simples que sofre invaginações em direção à lâmina própria, formando as fossetas ou criptas gástricas (**figura 6**), que são aberturas de ductos nos quais as glândulas gástricas lançam suas secreções de acordo com cada região do estômago. Todas as células epiteliais gástricas secretam muco alcalino, que forma uma espessa camada de gel, cujo papel é conceder proteção às células contra a acidez estomacal e demais fatores agressores da mucosa, causada pela presença do ácido clorídrico (HCl), além da pepsina e das lipases (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

Com base na sua estrutura e suas glândulas, a mucosa gástrica se divide em três regiões distintas: região glandular da cárdia, região oxíntica ou parietal e região glandular pilórica. Na região cárdia, as glândulas são, predominantemente, produtoras de muco e lisozima (enzima que destrói a parede bacteriana), enquanto que na região glandular oxíntica há glândulas tubulares ramificadas (chamadas glândulas fúndicas) que possuem tipos celulares (**figura 6**), dos quais a secreção é variada e, por fim, a região do piloro, possui glândulas pilóricas tubulosas simples, responsáveis pela secreção de muco e de quantidades apreciáveis de lisozima,

possuindo ainda muitas células enteroendócrinas, produtoras de gastrina (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017; BERNE e LEVY, 2018).

Além disso, vale ainda comentar que, especialmente na lâmina própria das porções do fundo e corpo do estômago, as células parietais são responsáveis pela secreção do HCl e o fator intrínseco; as células principais ou pépticas, estão envolvidas com a secreção do pepsinogênio; células semelhantes a células enterocromafins, são secretoras de histamina; e as células D, cuja função é secretar somatostatina estão todas distribuídas pelas glândulas gástricas de maneira não uniforme (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017; BERNE e LEVY, 2018).

Figura 6 - Representação da estrutura da mucosa gástrica (A) e estrutura detalhada das glândulas gástricas e tipos celulares da mucosa (B).

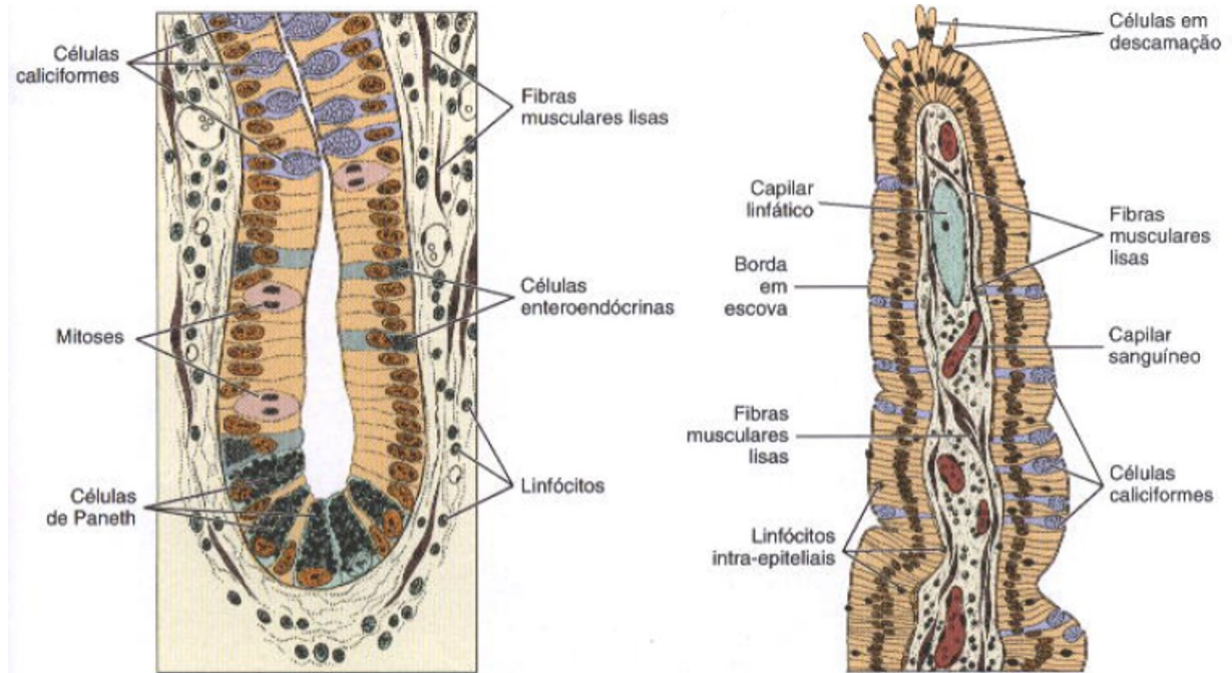


Fonte: BERNE e LEVY, 2018.

É no intestino delgado que se dá a finalização do processo de digestão completa dos alimentos, para que assim ocorra a absorção através das células epiteliais de revestimento. A mucosa do intestino delgado possui projeções alongadas em direção ao lúmen intestinal, que aumentam a sua área de superfície e são conhecidas como vilosidades (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017; BERNE e LEVY, 2018).

As glândulas intestinais são compostas por vários tipos celulares (**figura 7**) com funções especializadas, a saber: células absortivas, que são colunares altas que possuem no seu ápice uma camada de microvilosidades densamente agrupadas, que contribuem ainda mais para o aumento da superfície de absorção intestinal; células caliciformes, distribuídas entre as células absortivas, produzem mucina com a função de proteger e lubrificar o revestimento intestinal e estão em maior número conforme se aproximam do íleo; células de Paneth, responsáveis por produzir, armazenar os grânulos e secretar lisozima; células M, que são células epiteliais especializadas que representam um papel importante na defesa imunológica do organismo; além de células enteroendócrinas, que liberam hormônios com ação parácrina (locais) ou endócrina (via sangue) (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

Figura 7 - Diagrama ilustrativo da estrutura do intestino delgado.

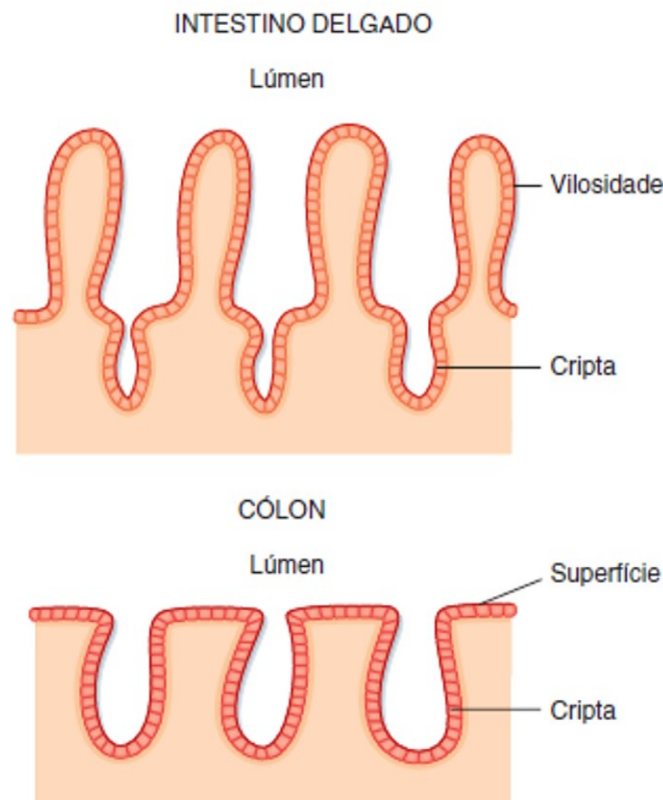


Na primeira imagem, há a demonstração das glândulas intestinais que são revestidas por epitélio intestinal e células caliciformes (porção superior). Na porção inferior, células epiteliais imaturas, frequentemente observadas em mitose, e à medida que migram, elas se diferenciam, e desenvolvem microvilosidades, observados como borda em escova. A observação também deve ser direcionada para as células de Paneth e células enteroendócrinas. Na segunda imagem, o topo de uma vilosidade mostra o revestimento epitelial colunar com sua borda em escova e um número moderado de células caliciformes. Capilares sanguíneos, um capilar linfático, células musculares lisas e linfócitos podem ser observados no eixo do tecido conjuntivo do vilo. Células estão sendo descamadas na superfície da vilosidade. Fonte: adaptado de JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017.

A mucosa do intestino grosso é ausente em pregas (exceto em sua porção distal – reto) e em vilosidades. As glândulas intestinais são longas, abundantes em células caliciformes, algumas células absortivas, com microvilosidades curtas e irregulares, e um número mínimo de

células enteroendócrinas. A submucosa é muito rica em nódulos e células linfoides, relacionados à abundante população bacteriana presente nesse órgão. A camada muscular é discretamente distinta daquela visualizada no intestino delgado, pois as fibras da camada externa se unem para formar três bandas longitudinais mais espessas, denominadas tênias do cólon (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 201).

Figura 8 - Comparação entre morfologia do epitélio do intestino delgado e do intestino grosso.



Fonte: BERNE e LEVY, 2018.

2.5. Aspectos relacionados ao Sistema Renal

SAVINO *et al.* (2010) revelam evidências de que o excesso de peso, em crianças, adolescentes e adultos, está associado com um risco aumentado de desenvolvimento de doença renal. A obesidade associada a outras doenças, principalmente hipertensão e diabetes pode afetar os rins (HOSSAIN; KAWAR; EL NAHAS, 2007), que são órgãos responsáveis por inúmeras funções, dentre elas a regulação do equilíbrio hidroeletrólítico, excreção dos produtos do metabolismo e substâncias exógenas, regulação da pressão arterial, regulação da produção de células vermelhas do sangue, regulação da produção de vitamina D, neoglicogênese e produção e secreção de hormônios (EATON e POOLER, 2006).

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada por danos ao tecido e disfunção progressiva e irreversível renal. Na DRC ocorre a redução da taxa de filtração glomerular (TFG) e, por conseguinte, a perda das funções excretórias, endócrinas e regulatórias dos rins (GUYTON e HALL, 2017; BASTOS *et al.*, 2004). Esta doença correlaciona-se com a maior probabilidade do desenvolvimento de doenças cardiovasculares e morte precoce, sendo considerada um problema de saúde pública, pois afeta uma proporção considerável de indivíduos na população (LOCATELLI, 2006).

Dentre as múltiplas comorbidades, causadas pela obesidade, que possuem impacto na incidência e progressão de doenças renais, a nefropatia diabética é a mais relatada e está presente em aproximadamente um terço dos pacientes diabéticos, possuindo incidência mundial acentuadamente aumentada (HOSSAIN; KAWAR; EL NAHAS, 2007).

Outro impacto renal causado pela obesidade e que vem mostrando uma incidência cada vez mais elevada, é conhecido como glomerulopatia, que se inicia com proteinúria e progride para disfunção renal, resultado de uma adaptação glomerular (hiperperfusão seguida por e hiperfiltração) desempenha papel importante na lesão renal (SAVINO, 2010). Além da hiperfiltração glomerular, o acúmulo de peso corporal excessivo causa alterações em vários fatores humorais, incluindo hiperinsulinemia e ativação do sistema renina-angiotensina, o que pode potencializar o dano glomerular (TOKUYAMA *et al.* 2012).

2.6. Aspectos relacionados à Síndrome Metabólica

A Síndrome Metabólica, causada por desequilíbrio na ingestão e gasto energéticos, consiste em uma associação complexa de vários fatores de risco, tais como hipertensão arterial sistêmica, obesidade, glicemia de jejum elevada, resistência insulínica e dislipidemias, que aumentam as chances de desenvolvimento de doença cardiovascular e diabetes do tipo 2 (O'NEILL e O'DRISCOLL, 2015; HOSSEINI-ESFAHANI *et al.*, 2018), aumentando assim a morbidade e mortalidade, sendo mundialmente considerada uma das principais causas evitáveis de morte (ZHANG *et al.*, 2017). Os vários critérios conceituais para Síndrome Metabólica estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde e demais órgãos e fundações, estão apresentados no **Quadro 1**.

Quadro 1 - Definições de Síndrome Metabólica em adultos

	IDF	ATP III	EGIR	WHO
Definições	Obesidade Abdominal + dois ou mais desses componentes:	Presença de três ou mais desses componentes:	Insulina plasmática elevada + dois dos fatores:	Intolerância à Glicose ou DM, e/ou resistência insulínica associados com dois ou mais componentes:
IMC (kg/m ²)	> 30	-	-	> 30
CA (cm)	Dependente da população. Caso o IMC seja > 30kg/m ² a obesidade central pode ser assumida, sem necessidade dessa medida.	Dependente da população.	≥ 94 (homens) ≥ 80 (mulheres)	Relação Cintura/Quadril > 0,9 (homens) e > 0,85 (mulheres)
TG (mg/dl)	≥ 150 ou com tratamento específico para essa anormalidade lipídica.	≥ 150 ou com tratamento medicamentoso para hipertrigliceridemia.	≥ 150	≥ 150
HDL (mg/dl)	< 40 (homens) < 50 (mulheres) ou com tratamento específico para essa anormalidade lipídica.	< 40 (homens) < 50 (mulheres)	< 39 em ambos os sexos	< 35 (homens) < 39 (mulheres)
PA (mmHg)	Sistólica ≥ 130 ou Diastólica ≥ 85 ou tratamento de hipertensão previamente diagnosticada.	>130/85 ou com tratamento medicamentoso para hipertensão.	>140/90 ou com tratamento anti-hipertensivo.	>140/90
Glicemia de Jejum (mg/dl)	≥ 100 ou diagnóstico prévio de diabetes tipo 2.	≥ 100 ou com tratamento medicamentoso para hiperglicemia.	Glicemia de jejum alterada ou tolerância à glicose prejudicada.	-
Albuminúria (µg/min)	-	-	-	≥ 20 µg/min ou Relação Albumina/Creatinina ≥ 30 µg/min

Abreviações: CA, Circunferência Abdominal; DM, Diabetes Mellitus; EGIR, Grupo Europeu de Estudo da Resistência Insulínica; HDL, Lipoproteína de alta densidade; IDF, Federação Internacional de Diabetes; IMC, Índice de Massa Corporal; NCEP ATP III, Programa Nacional de Educação sobre Colesterol – Painel de Tratamento de Adultos III; PA, Pressão Arterial; TG, Triglicerídeos; WHO, Organização Mundial de Saúde. Fonte: Traduzido e adaptado de HOSSEINI-ESFAHANI et al, 2018.

Estima-se que mais de um bilhão de pessoas em todo mundo apresentem Síndrome Metabólica, sendo sua prevalência altamente associada à urbanização e estilo de vida (ZHANG et al, 2017). Um estudo realizado por AZIZI e colaboradores (2003) com 10738 participantes adultos com faixa etária igual ou superior a 20 anos, detectou um percentual de 33,7% dos pacientes com síndrome metabólica baseada nos critérios do NCEP ATP III (Programa Nacional de Educação sobre Colesterol – Painel de Tratamento de Adultos III), sendo que a prevalência foi maior (42%) nas mulheres do que nos homens (24%). Eles identificaram ainda

que a alteração metabólica mais prevalente foi a baixa concentração de HDL-c, seguida de triglicerídeos e pressão arterial elevados, aumento de circunferência abdominal e elevações na glicemia de jejum.

Um estudo recente realizado com camundongos *Swiss* demonstrou que o estado nutricional materno e as condições sob as quais um organismo se desenvolve no útero estão criticamente envolvidos na susceptibilidade ao desenvolvimento da Síndrome Metabólica (De Paula-Simino et al, 2017). Considerando isso, MASUYAMA e HIRAMATSU (2012) relataram que o consumo de dieta hiperlipídica durante a gestação foi responsável por promover uma desregulação no metabolismo dos triglicerídeos e do tecido adiposo, provocando nos filhotes, por meio de alterações epigenéticas, eventos relacionados à Síndrome Metabólica. Além disso, é importante salientar que as alterações programadas no desenvolvimento fetal persistem ao longo da vida adulta, mesmo quando mantidas condições de estilo de vida alimentar saudável após o desmame (ASHINO et al, 2012).

Diante do exposto é relevante destacar que existem poucos estudos que avaliam as repercussões metabólicas na prole adulta, de mães expostas a dietas hiperlipídicas, com diferentes teores de lipídeos, durante a gestação e lactação, além de não existirem, na literatura científica, trabalhos que identifiquem as possíveis repercussões da exposição à dieta hiperlipídica materna para o TGI da prole. Com isso, é evidente notar que os potenciais resultados desse trabalho poderão servir de subsídio para a conscientização da população, especialmente mulheres em idade fértil e gestantes, em relação a adoção de comportamentos alimentares saudáveis.

3. OBJETIVOS

3.1-Objetivo Geral

Investigar possíveis repercussões gastrointestinais e metabólicas na prole de mães que consumiram dieta hiperlipídica, com diferentes teores de lipídeos, durante a gestação e amamentação.

3.2- Objetivos Específicos

Estudar as influências da dieta hiperlipídica nos seguintes parâmetros:

- Consumo alimentar e hídrico e variação de peso corporal das ratas grávidas;
- Morfometria do estômago e dos diferentes segmentos intestinais (delgado e grosso) de filhotes de 30 dias;
- Susceptibilidade à úlcera gástrica em filhotes de 30 dias;
- Motilidade do intestino delgado em filhotes de 30 dias de idade;
- Acúmulo de líquido intestinal (enteropooling) em filhotes de 30 dias;
- Motilidade do cólon distal em filhotes de 30 dias;
- Peso corporal e peso relativo dos órgãos do sistema gastrintestinal e dos rins dos filhotes de 30 e 120 dias de idade, respectivamente;
- Níveis de pressão arterial pulsátil, média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca dos filhotes de 120 dias;
- Níveis plasmáticos de glicose, colesterol total, triglicerídeos dos filhotes de 120 dias;
- Composição corporal por meio do Índice de Lee e peso de Tecido Adiposo seco de filhotes de 120 dias.
- Avaliação dos níveis plasmáticos de creatinina, taxa de filtração glomerular (TFG) e excreção urinária de proteínas dos filhotes de 120 dias.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Todos os protocolos experimentais necessários para o desenvolvimento deste trabalho foram aprovados pela Comissão de Ética na Utilização de Animais sob o protocolo CEUA/UFU nº 054/18 de 29 de agosto de 2018. (ANEXO)

4.1 Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* machos com peso corporal acima de 300g e fêmeas com peso acima de 180g, provenientes do biotério central da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os animais foram mantidos separados por sexo, em caixas, de polipropileno grandes (dimensões CxLxA: 41x34x16cm) com maravalha, distribuídas em estantes, em salas com temperatura controlada, ciclo claro-escuro de 12 horas, e com água e ração *ad libitum*, no Biotério Setorial do bloco 2A (Rede de Biotérios de Roedores da UFU – REBIR/UFU), localizado no Departamento de Fisiologia (DEFIS) do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) da UFU.

Os animais machos (n=15) foram mantidos individualmente em suas caixas para reconhecimento de território e diariamente, ao final da tarde, as fêmeas (n=49) foram colocadas nas caixas dos machos na proporção de 2 a 3 fêmeas para cada macho. No início da manhã do dia seguinte, foi realizado o esfregaço vaginal para detecção de uma possível gravidez, pela presença de espermatozoides no esfregaço. Uma vez grávidas, as fêmeas foram colocadas em caixas individuais (dimensões CxLxA: 30x19x13cm) e foram divididas nos seguintes grupos:

Grupo 1 (Grupo Controle): mães que receberam dieta comercial durante a gestação e lactação;

Grupo 2 (Grupo Experimental 1 - Dieta Hiperlipídica 28%): mães que receberam dieta hiperlipídica com teor de 28% de lipídeos, durante a gestação e lactação.

Grupo 3 (Grupo Experimental 2 - Dieta Hiperlipídica 40%): mães que receberam dieta hiperlipídica com teor de 40% de lipídeos, durante a gestação e lactação.

Durante o tratamento com as respectivas dietas foram acompanhados parâmetros maternos como: consumo médio diário de ração e líquido por 5 dias consecutivos, bem como a variação de peso corporal ao longo dos 21 dias de gestação.

O consumo médio diário de ração pelas ratas grávidas foi acompanhado durante cinco dias, a partir do 8º dia de gestação. Para isso, a ração foi pesada e o volume de líquidos foi avaliado por meio de uma proveta inicialmente (no dia 0), e todos os dias no mesmo horário, durante os cinco dias de avaliação, a ração era pesada e o volume de líquido avaliado, sendo a diferença da primeira e da segunda avaliações a quantidade de ração e líquidos, respectivamente, ingeridos pelos animais. Através do consumo médio de ração foi calculado o consumo de cada macronutriente, utilizando por base o conteúdo de carboidratos, proteínas e lipídeos de cada ingrediente das rações hiperlipídicas, obtido por meio da tabela de composição dos alimentos (TACO, 2011).

Já a avaliação do ganho total e da variação do ganho de peso corporal das ratas grávidas, foi realizada a cada 5 dias, desde o peso pré-gestacional até o 20º dia de gravidez. Também foi calculada a porcentagem do sucesso gestacional, levando-se em consideração quantas ratas efetivamente pariram das que foram consideradas grávidas.

Os filhotes foram expostos à dieta hiperlipídica durante a gestação (21 dias) e lactação (21 dias). Desse modo, após o desmame, esses animais foram separados de suas respectivas mães e passaram a consumir ração comercial padrão até a data da eutanásia. Ao completar 30 dias de idade, os filhotes machos foram utilizados para os experimentos do sistema gastrointestinal, enquanto que os filhotes fêmeas com 120 dias foram utilizados para os testes de parâmetros metabólicos (determinação de pressão arterial, níveis séricos de lipídeos, glicemia, testes funcionais de sistema renal e parâmetros associados à obesidade).

Para garantir a variabilidade amostral foram utilizados no máximo dois filhotes de cada mãe para cada experimento realizado.

4.2 Composição das Rações

A ração normolipídica consiste em ração comercial (Nuvilab) para ratos contendo por peso: 19% de proteínas, 56% de carboidratos e 3,5% de lipídeos, totalizando 4,068kcal/g (17,03KJ/g).

Já a ração hiperlipídica 28% consistiu na adição de alimentos hipercalóricos à 65g de ração comercial (Nuvilab) na seguinte proporção: 12g de amendoim torrado, 4g de chocolate ao leite, 2g de biscoito maisena e 17g de banha de porco, de modo que a composição centesimal dessa ração foi de 15% de proteínas, 42% de carboidratos, 28% de lipídeos, totalizando 5,25kcal/g (21,96 KJ/g) (adaptado de DUARTE et al, 2006).

Enquanto a ração hiperlipídica 40% continha os mesmos ingredientes que foram adicionados à ração 28% mas em proporções diferenciadas. Foram adicionados à 48g de ração comercial (Nuvilab), 18g de amendoim torrado, 5g de chocolate ao leite, 3g de biscoito maisena e 26g de banha de porco. Estes ingredientes foram moídos, misturados e oferecidos na forma de peletes, contendo por peso: 14% de proteínas, 35% carboidratos e 40% de lipídeos, totalizando 5,83 kcal/g (24,39 KJ/g).

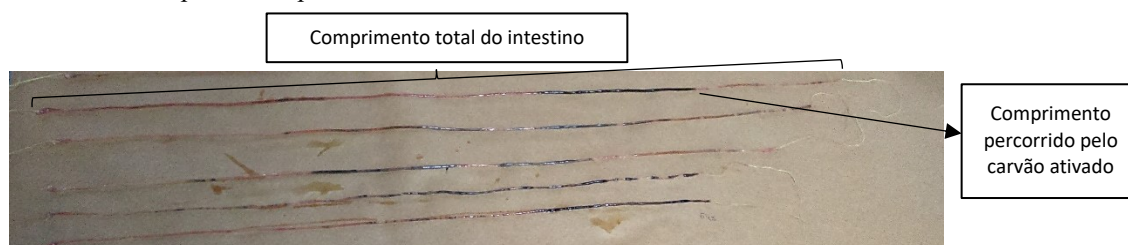
4.3 Testes de Função Gastrintestinal

Nos filhotes machos de 30 dias de idade dos 3 grupos estudados foram realizadas análises gástricas, como área total do estômago, peso do órgão e relação entre o peso do estômago e peso corporal. Quanto ao intestino delgado, avaliou-se o comprimento total, peso do órgão e relação entre o peso intestinal e peso corporal. Já para o intestino grosso, o parâmetro funcional avaliado foi a motilidade colônica distal. É importante destacar que, para todos os experimentos funcionais do TGI, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas.

4.3.1 Avaliação da motilidade gastrintestinal utilizando o modelo do trânsito do carvão ativado

Os filhotes receberam 0,8 mL/100g de peso corporal da suspensão de carvão ativado 5% em solução de carboximetilcelulose 5% por gavagem. Seguidos 30 min da administração da suspensão, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical após anestesia com tiopental (0,2 mL/100g de peso corporal i.p.). Em seguida o intestino delgado foi removido para a determinação da distância percorrida pelo carvão ativado (expresso em % do comprimento do intestino) (**Figura 9**) (HARRISON et.al, 2004; UDDIN et al., 2005).

Figura 9 - Distância percorrida pelo carvão ativado.



Fonte: REZENDE, 2018.

4.3.2 Avaliação do acúmulo de líquido intestinal (enteropooling) produzido pelo óleo de rícino

Os filhotes receberam por via oral (gavagem) óleo de rícino ou salina (0,8 mL/animal) (DOHERTY; HANCOCK, 1983; ROBERT et al., 1976). Após 30 minutos os animais foram anestesiados com tiopental (0,2 mL/100g de peso corporal i.p.) e eutanasiados por deslocamento cervical. Realizou-se laparotomia, seguida de amarração e isolamento do intestino delgado, o qual foi pesado. O conteúdo intestinal foi removido e o intestino novamente pesado. A diferença entre os pesos do intestino cheio (IC) e vazio (IV) foi utilizada como indicativo do conteúdo intestinal relativo, onde enteropooling = $(IC-IV)/\text{peso do animal (em mg/g X1000)}$.

4.3.3 Estudo da motilidade do cólon distal

Após jejum de 12h, foi introduzida uma esfera de plástico de 2 mm de diâmetro no cólon distal (distância de 2,5 cm) dos filhotes de 30 dias, com o auxílio de uma sonda plástica. Os animais ficaram sob observação de um experimentador específico e o tempo para expulsão da esfera foi registrado para cada animal e serviu de parâmetro para inferir alterações na motilidade do cólon (KOSLO et al., 1986).

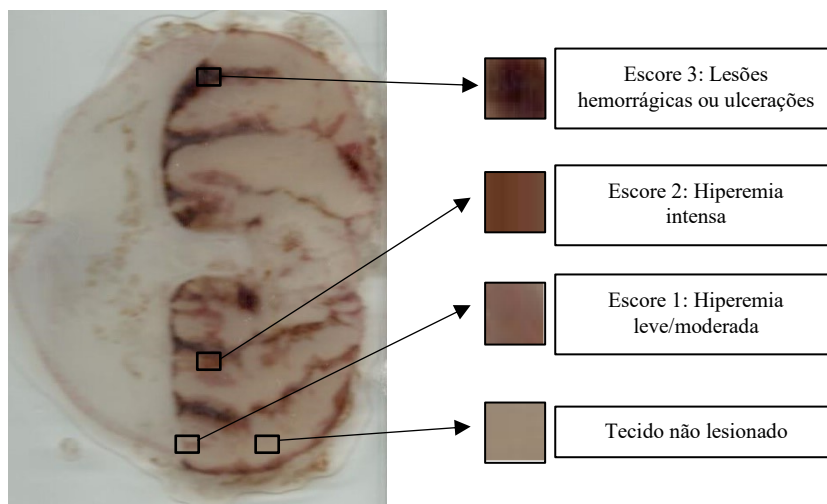
4.3.4 Avaliação da susceptibilidade à úlcera gástrica

Com auxílio de uma agulha de gavagem, foi administrada (via intragástrica) 0,8 mL/100g de peso corporal de solução hidroalcoólica (0,3M de HCl/ etanol 60%), com intuito de induzir lesões gástricas e testar a suscetibilidade à úlcera gástrica dos filhotes machos de 30 dias. Depois de 1h, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical após anestesia com tiopental (0,2 mL/100g de peso corporal i.p.). Em seguida, foi realizada a laparotomia para remoção dos estômagos, os quais foram abertos através da curvatura maior, lavados em salina e montados entre 2 placas de vidro. O material foi escaneado em Scanner HP Scanjet 2400 e as imagens dos estômagos analisadas no software Image J (<https://imagej.nih.gov/ij/>), sendo os resultados expressos em índice de úlcera (IU).

Para calcular o IU, as lesões gástricas foram classificadas e receberam escores de acordo com a severidade das mesmas, da seguinte maneira: área de lesões hemorrágicas ou ulceração propriamente ditas (3); área de hiperemia intensa (2); e área de hiperemia leve/moderada (1) (**Figura 10**). O IU foi determinado como previamente descrito (PRADO et al, 2014): $IU=3X$

área de lesão hemorrágica (mm^2) + 2X área de hiperemia intensa (mm^2) + 1X área de hiperemia leve/moderada (mm^2).

Figura 10 - Classificação em escore para as lesões gástricas.



Fonte: REZENDE, 2018.

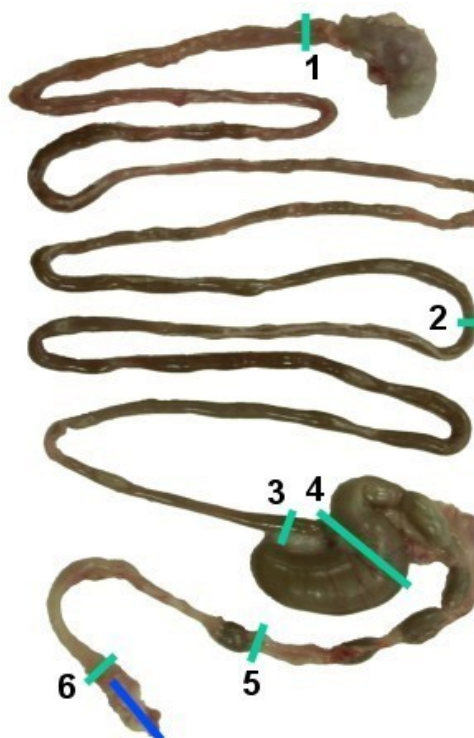
4.4 Avaliação Morfométrica do Sistema Gastrointestinal

Para avaliação da morfometria, os filhotes machos de 30 dias foram anestesiados e eutanasiados, e em seguida tiveram os órgãos como estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco e reto coletados. Os fragmentos obtidos das amostras intestinais apresentavam um comprimento médio de 2 cm. Para a coleta do intestino delgado, a porção proximal, foi considerada como duodeno; a porção intermediária, foi considerada como jejuno; e a porção mais distal, considerou-se como íleo. Enquanto que para o intestino grosso, os fragmentos coletados da porção mais inicial, foram considerados como ceco; fragmentos intermediários, cólon; e fragmentos obtidos da porção distal, foram considerados como reto (**figura 11**).

O material coletado foi irrigado com salina (0,9%) para remover todo o conteúdo luminal e em seguida foi injetado fixador, com auxílio de uma seringa, no interior de cada órgão para garantia de uma fixação adequada. Após isso, o material foi conservado em Methacarn (60% metanol, 30% clorofórmio e 10% ácido acético glacial) por 24h, e posteriormente mantidos em álcool 70%, para fixação do tecido. Sequencialmente foram realizadas as etapas de processamento do material histológico, que consistem em colocar os tecidos identificados, em pequenas caixas, chamadas de cassetes, desidratados em uma sequência de álcoois em ordem crescente (70% a 100%), diafanizados com imersão em Xilol (solvente orgânico, Synth) e banhados em parafina, para que a mesma impregne o tecido, atingindo as células e mantendo suas estruturas. Posteriormente, ocorreu a inclusão dos tecidos em blocos parafinizados para

então serem seccionados em cortes de 5 μ m de espessura em micrótomo, fixados em lâminas de vidro, previamente gelatinizadas e mantidos em estufa, por 24h, na temperatura de 60°C, para remoção do excesso de parafina.

Figura 11 - Representação das porções intestinais referentes aos fragmentos coletados para análise estrutural.



1: duodeno; 2: jejuno; 3: íleo; 4: ceco; 5: cólon; 6: reto.

Fonte: RUEHL-FEHLERT et al, 2003.

Em seguida realizou-se a coloração das lâminas com Hematoxilina-Eosina (HE) para captura das imagens dos cortes histológicos. Esse processo foi realizado por meio de microscopia óptica digitalizada através do software OPTICAM acoplado ao microscópio da marca NIKON modelo eclipse Ti-S, em aumento de 4x.

Finalmente, utilizando o software de análise de imagem Image J, foram calculadas as espessuras médias (**figura 12**) das camadas muscular externa, submucosa e mucosa, bem como a espessura total da parede do estômago e dos segmentos intestinais, medindo-se a distância entre os limites de cada uma das camadas em 4 regiões distintas do corte transversal, escolhidas de forma aleatória (para isso, foi traçada uma linha imaginária dividindo cada corte histológico em 4 quadrantes, considerando-se um ponto aleatório em cada quadrante). Em adição, para os segmentos do intestino delgado, também foi avaliado o número de vilosidades relativo à área da mucosa do respectivo segmento intestinal (adaptado de TRAMONTE et al, 2004; VIGUERAS et al, 1999). Para a medida da área da mucosa dos segmentos de intestino delgado,

toda a região da mucosa foi contornada e o cálculo da área foi realizado pelo software. Apenas as vilosidades que tinham continuidade com a parede intestinal, foram consideradas. A calibração foi feita com uma régua micrométrica apropriada. Todos os parâmetros estruturais foram avaliados da mesma imagem e região, sendo que para cada filhote, a imagem de um corte foi analisada.

Figura 12 - Representação esquemática da mensuração das espessuras das camadas da parede do TGI.



Coloração HE. Aumento 4x. 1: espessura total; 2: espessura da camada muscular; 3: espessura da camada submucosa; 4: espessura da camada mucosa. Fonte: a autora.

4.5 Determinação da Pressão Arterial

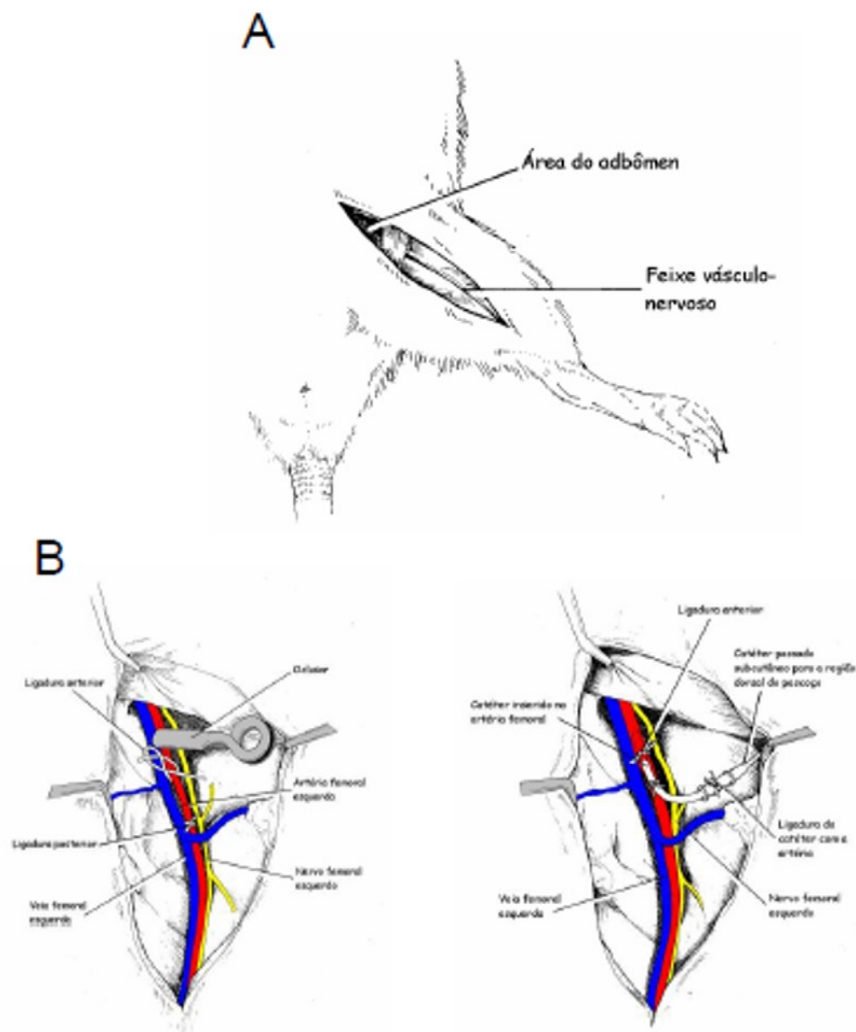
Todos os filhotes fêmeas de 120 dias foram anestesiados (ketamina – xilazina 20-40 mg/kg) para implantação de cânulas de polietileno, confeccionadas com a utilização de tubos de polietileno PE-50 (diâmetro interno de 0,05mm) e soldados a tubo de polietileno PE-10 (diâmetro interno de 0,01mm).

Antes do implante, o interior das cânulas foi lavado e preenchido de heparina sódica 50UI/ml e solução fisiológica e inseridas na artéria e veia femorais para registro da pressão

arterial, frequência cardíaca (cânula arterial) e administração de drogas (cânula venosa), respectivamente. A extremidade a ser conectada no transdutor de pressão foi fechada com pinos de aço inoxidável.

As cânulas foram introduzidas através de uma pequena incisão inguinal esquerda em direção ao feixe vasculo-nervoso. Já as extremidades de menor calibre das cânulas (PE-10) foram introduzidas na luz da artéria e veia femorais (**figura 13**). As cânulas foram fixadas com fio de algodão na artéria e na veia, e suas extremidades mais calibrosas (PE-50) foram transpassadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical, fixadas com fio de algodão na pele. O tamanho das cânulas foi ajustado de acordo com o tamanho dos animais. A anti-sepsia no campo cirúrgico foi feita utilizando-se polivinil-pirrolidona (PVPI).

Figura 13 - Esquema do procedimento de canulação. A: sítio de dissecação para cateterização da artéria femoral. B: isolamento da artéria femoral e inserção da cânula.



Fonte: FLUES, 2011.

Antes de iniciar o registro de pressão arterial, foi administrada salina heparinizada (50 UI/ml) na cânula implantada na artéria femoral com intuito de impedir a formação de coágulos durante o experimento. Em seguida, a cânula arterial foi conectada a um transdutor de pressão Statham P23Db, o qual foi acoplado ao registrador Grass (Grass model) de 8 canais e ao sistema computadorizado de registro Mac Lab 8 canais (AD Instruments). A aquisição dos dados foi obtida por meio de software correspondente ao sistema de registro (Powerlab versão 8, AD Instruments). Foram registrados simultaneamente a pressão arterial pulsátil (PAP), a pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC). A FC foi obtida através de biotacômetro, a partir dos sinais gerados pela PAP. A PAM foi obtida por amortecimento eletrônico (filtro passa baixo) a partir do sinal da PAP. O software captura os sinais PA com uma frequência amostral de 1000 Hz.

Os animais foram mantidos em caixas individuais durante todo o registro. Os experimentos foram realizados 48 horas após a canulação e iniciados após um período de no mínimo 20 minutos de adaptação dos animais as condições de som e iluminação do laboratório. A PAM, Pressão Arterial Diastólica (PAD), Pressão Arterial Sistólica (PAS) e FC foram obtidas simultaneamente a partir de derivações do sinal da pressão arterial pulsátil. A PAM era calculada a partir do registro da PAP de acordo com a fórmula abaixo e a FC era calculada como a frequência instantânea do sinal de PA.

$$PAM = PAdiastólica + 1/3 (PASistólica - PADiastólica).$$

Para efeito das análises os níveis de PAM e FC em repouso de cada rato foram considerados como sendo a média aritmética calculada em um período de 30 segundos após os 20 minutos de adaptação.

4.6 Determinação de Lipídios séricos e Glicemia

Os níveis séricos de colesterol total e de triglicerídeos foram determinados por método enzimático-Trinder e avaliados nos filhotes fêmeas de 120 dias. Os ésteres de colesterol são hidrolisados pela enzima colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pela enzima colesterol oxidase a colest-4-em-ona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peroxidase e peróxido de hidrogênio, o fenol e a 4-aminoantipirina são oxidados formando a antipirlquinonimina que tem absorvidade máxima em 500nm. A intensidade da

cor vermelha formada na reação final é diretamente proporcional à concentração do colesterol na amostra.

Já para a determinação dos triglicerídeos, a lipoproteína lipase promove hidrólise dos triglicerídeos liberando glicerol, que é convertido pela ação da glicerolquinase, em glicerol-3-fosfato. Este é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença de glicerolfosfato oxidase. Em seguida, ocorre uma reação de acoplamento entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, catalisada pela enzima peroxidase, produzindo uma quinoneimina que tem máximo de absorbância em 505nm. A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração dos triglicerídeos na amostra.

A glicemia ocasional foi avaliada por meio de uma gota de sangue obtida através de um pequeno corte na cauda no animal e verificada com auxílio de um glicosímetro.

4.7 Testes Funcionais do Sistema Renal

Os estudos de função renal foram feitos nos animais de 120 dias pelo *clearance* de creatinina. Os filhotes foram colocados em gaiolas metabólicas durante 24 horas para adaptação. Em seguida, permaneceram por mais 24 horas para a coleta de urina, quando também foi coletada uma amostra de sangue. Para determinação do *clearance* de creatinina e consequentemente da Taxa de Filtração Glomerular (TFG), a dosagem de creatinina urinária e plasmática foi feita utilizando-se método colorimétrico.

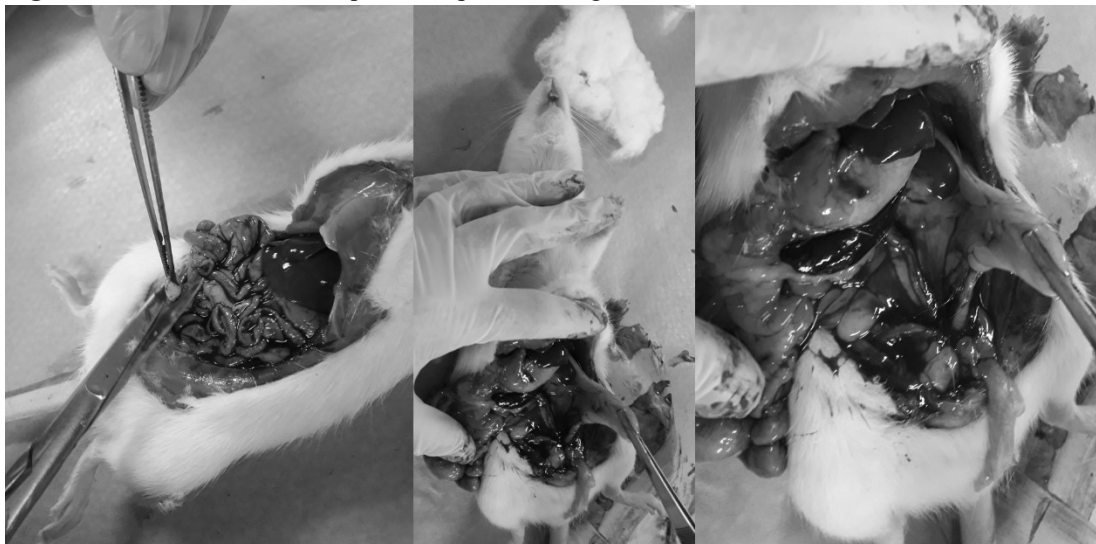
A Excreção Urinária de Proteína foi determinada por colorimetria nos animais de 120 dias com o auxílio do vermelho de pirogalol (Labtest). Esta substância reage com o molibdato de sódio formando um complexo que, quando combinado com a proteína em meio ácido desenvolve um cromóforo de cor azul. A absorbância obtida pela leitura das amostras em espectrofotômetro é diretamente proporcional à concentração de proteína na amostra.

4.8 Parâmetros associados à obesidade

Para estimar a gordura e medir a adiposidade corporal, os pesos e os comprimentos corporais das fêmeas de 120 dias de idade foram obtidos ao final dos experimentos, para a realização do cálculo do Índice de Lee (BERNARDIS e PATTERSON, 1968). Esse índice consiste na divisão da raiz cúbica do peso em gramas pelo comprimento nasoanal em centímetros multiplicado por 100 (adaptado de BERNARDIS e PATTERSON, 1968) e fornece uma rápida mensuração da obesidade em ratos. Além disso, após a eutanásia desses animais,

livre de dor e sofrimento, o tecido adiposo da região retroperitoneal foi coletado (**figura 14**), lavado com salina e pesado após 24 horas de secagem na estufa à 45°C (**figura 38**).

Figura 14 - Coleta de tecido adiposo retroperitoneal e gonadal.



Fonte: a autora.

4.9 Análise Estatística

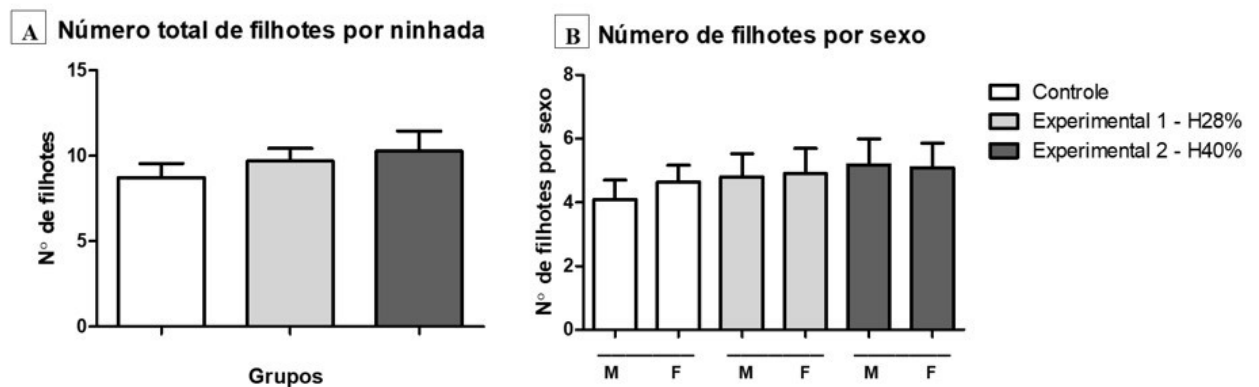
A análise estatística foi realizada no software *GraphPad Prism Version 5.00 (Trial)*. Primeiramente, verificou-se se os dados apresentaram ou não distribuição normal com os testes de *Kolmogorov-Smirnov*, *D'Agostino e Pearson* e *Shapiro Wilk*. Quando foi constatada uma distribuição normal dos dados analisados, utilizou-se um teste paramétrico, caso contrário, utilizou-se um teste não-paramétrico. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. Os testes utilizados para cada parâmetro estudado são citados na legenda de cada gráfico constante no item *Resultados*.

5. RESULTADOS

5.1 Dados maternos

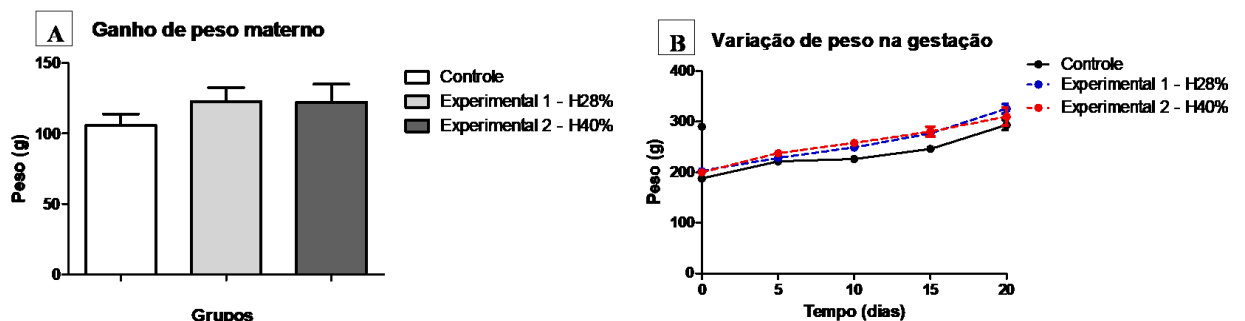
O número de ratas *Wistar* que foram colocadas para cruzamento, identificadas como grávidas e que tiveram seus filhotes não foi diferente entre os grupos de estudo (70,50% no grupo C; 62,50% no grupo E1 e 68,75% no grupo E2), demonstrando que o consumo de dieta hiperlipídica não interferiu no sucesso da gravidez, assim como não resultou em alteração no número de filhotes por ninhada (**figura 15A**) e nem na proporção entre machos e fêmeas (**figura 15B**). Do mesmo modo, o ganho de peso materno e a variação de peso ao longo da gestação (0, 5, 10, 15 e 20 dias) também não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos (**figuras 16A e 16B**).

Figura 15 - Gráfico do número total de filhotes (A) e número de filhotes por sexo (B).



(A) Número total de filhotes por ninhada dos grupos C (n=22), E1 (n=21) e E2(n=22). (B) Número de filhotes por sexo dos grupos Cm (n=11), Cf (n=10), E1m (n=10), E1f (n=11), E2m (n=11) e E2f (n=11). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

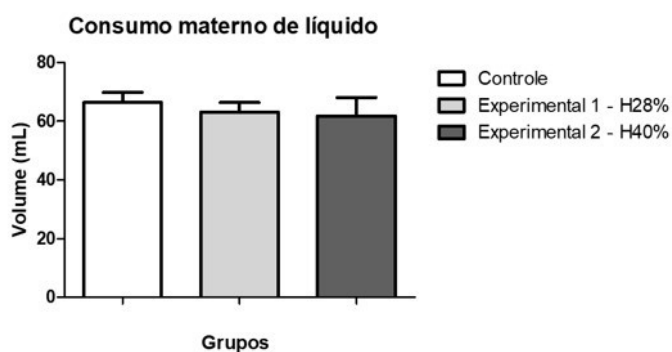
Figura 16 - Gráficos do ganho de peso (A) e da variação de peso maternos (B) ao longo da gestação.



(A) Ganho de peso das mães dos grupos C (n=7), E1 (n=8), E2 (n=8). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. (B) Variação de peso ao longo da gestação de mães dos grupos C (n=7), E1 (n=8), E2 (n=7). ANOVA Two-way com pós-teste de Bonferroni. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

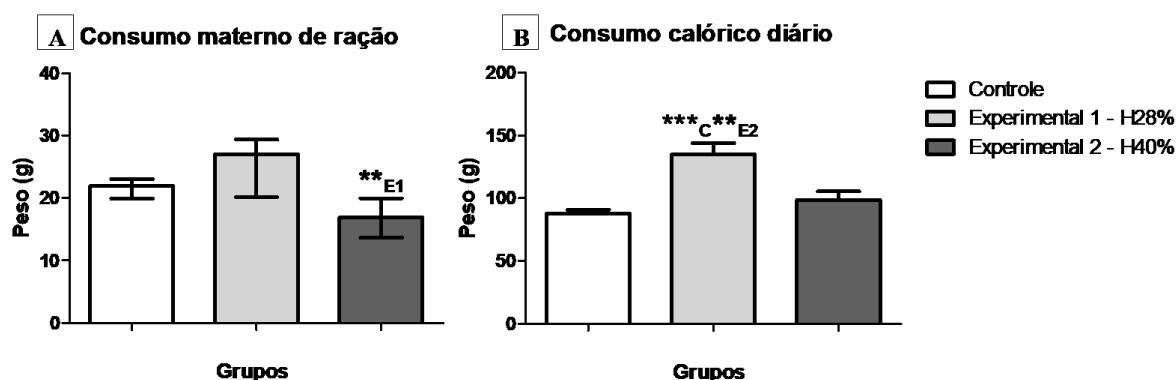
O consumo materno de líquidos e ração foi avaliado por 5 dias consecutivos durante a gestação. O primeiro foi semelhante entre os grupos estudados (**figura 17**), já o consumo de ração foi menor no grupo E2 quando comparado ao E1 (**figura 18A**), enquanto que o consumo calórico diário das mães do grupo E1 foi maior em comparação aos demais grupos (**Figura 18B**), demonstrando que a quantidade de ração ingerida diminuiu à medida que a oferta calórica aumentou. Levando-se em consideração a quantidade de ração ingerida, foi possível calcular o consumo em separado de cada macronutriente, neste caso observou-se que o consumo materno de carboidratos (**figura 19A**) e proteínas (**figura 19B**) foi menor no grupo E2 em relação aos grupos C e E1. Já a ingestão de lipídeos (**figura 19C**) foi maior nos dois grupos experimentais, não havendo diferenças entre eles. Esses resultados eram esperados, uma vez que o teor de carboidratos e proteínas das rações experimentais era menor que o teor de lipídeos.

Figura 17 - Gráfico do consumo materno de líquido.



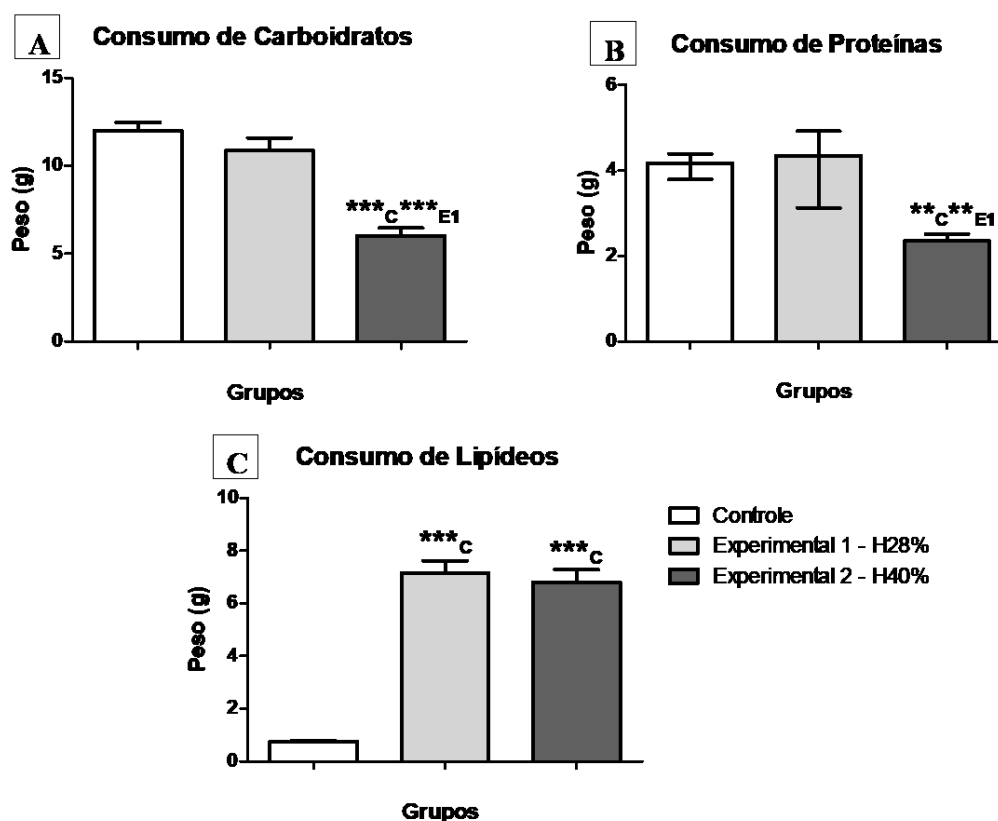
Consumo materno de líquido dos grupos C (n=7), E1 (n=8), E2 (n=8). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Figura 18 - Gráficos do consumo de ração (A) e consumo calórico diário (B) das ratas grávidas.



(A) Consumo diário de ração das mães dos grupos C (n=7), E1 (n=8), E2 (n=8). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. (B) Consumo calórico diário das mães dos grupos C (n=7), E1 (n=8), E2 (n=8). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. ***C: $p < 0,001$ versus C; **E1: $p < 0,01$ versus E1.

Figura 19 - Gráficos do consumo de carboidratos (A), proteínas (B) e lipídeos (C) das ratas grávidas.



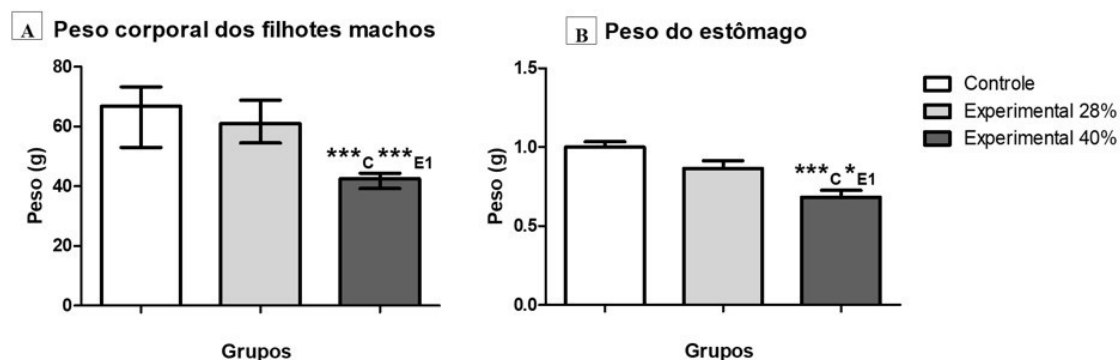
(A) Consumo de carboidratos das mães das mães dos grupos C (n=7), E1 (n=8), E2 (n=8). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. (B) Consumo de proteínas das mães dos grupos C (n=7), E1 (n=8), E2 (n=8). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. (C) Consumo de lipídeos das mães das mães dos grupos C (n=7), E1 (n=8), E2 (n=8). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. ***C: $p < 0,001$ versus C; ***E1: $p < 0,001$ versus E1; **C: $p < 0,01$ versus C; **E1: $p < 0,01$ versus E1.

5.2 Dados da Prole

5.2.1 Dados Gastrintestinais

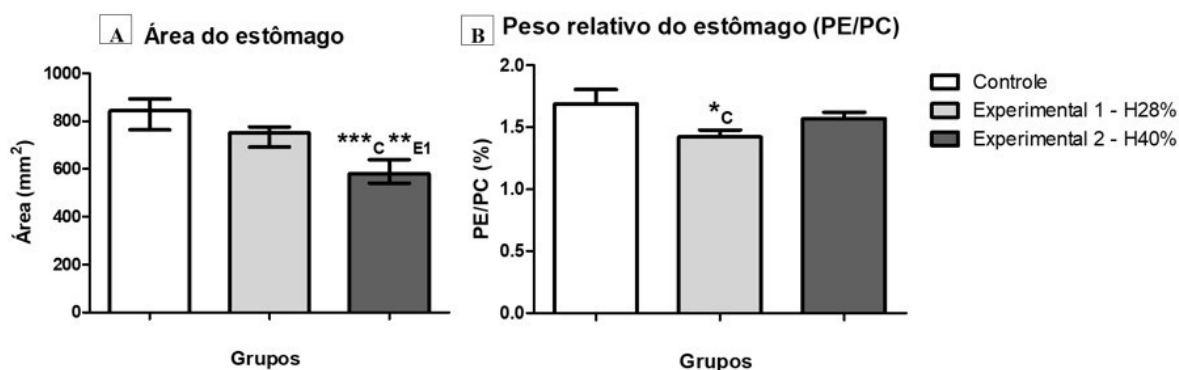
O peso corporal (**figura 20A**), peso bruto (**figura 20B**) e área do estômago (**figura 21A**) foram menores nos animais de 30 dias do grupo E2 quando comparados aos grupos C e E1, enquanto que o peso relativo deste órgão (**figura 21B**) foi menor nos animais de E1 em relação ao grupo C. Esses dados mostram que a dieta hiperlipídica 40% (E2) prejudicou tanto o crescimento dos animais quanto o crescimento do estômago, enquanto a de 28% (E1) provocou alterações somente no crescimento do órgão, que apesar de menor mostrou-se com a parede mais espessa (**figura 22A**), provavelmente devido a um aumento da camada mucosa (**figura 22B**), se comparado ao C. As outras camadas submucosa e muscular não foram diferentes entre os grupos (**figuras 22C e 22D**).

Figura 20 - Gráficos do peso corporal (A) e do peso bruto do estômago (B) dos filhotes machos de 30 dias.



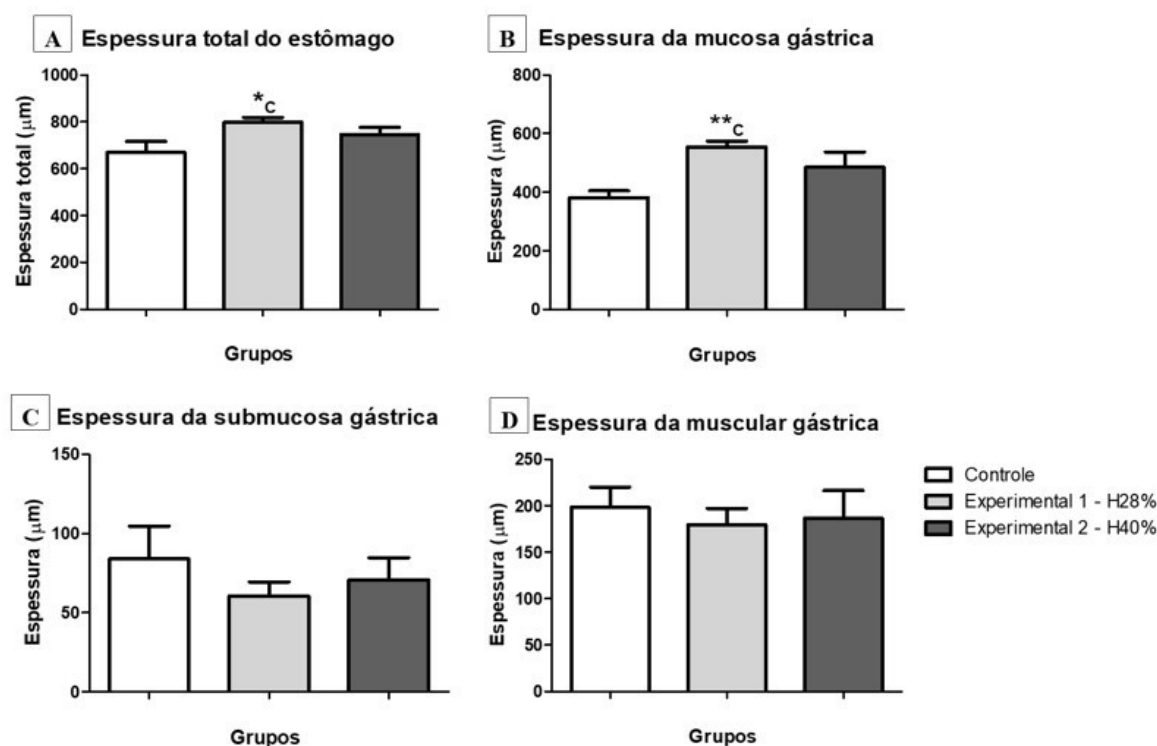
(A) Peso corporal dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=31), E1 (n=39), E2 (n=40). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. (B) Peso bruto do estômago dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=11), E2 (n=10). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. ***C: $p<0,001$ versus C; ***E1: $p<0,001$ versus E1; *E1: $p<0,01$ versus E1.

Figura 21 - Gráficos da área (A) e do peso relativo do estômago (B) dos filhotes machos de 30 dias.



(A) Área do estômago dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=11), E2 (n=10). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. (B) Peso relativo do estômago dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=11), E2 (n=10). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. ***C: $p<0,001$ versus C; *C: $p<0,05$ versus C; **E1: $p<0,01$ versus E1.

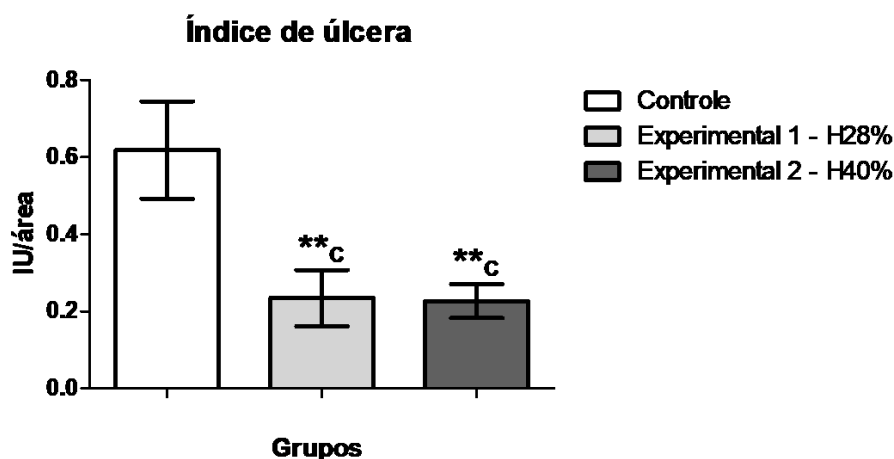
Figura 22 - Gráficos da espessura total (A) e da espessura das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do estômago dos filhotes machos de 30 dias.



(A) Espessura total e espessuras das camadas (B) mucosa, (C) submucosa e (D) muscular do estômago dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=7), E2 (n=6). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. ^{**C}: $p < 0,01$ versus C; ^{*C}: $p < 0,05$ versus C.

Com relação à parte funcional gástrica, o índice de úlcera foi menor nos 2 grupos experimentais quando comparados ao grupo C (**figura 23**), ou seja, os filhotes de mães submetidas a dieta hiperlipídica respondem com menor intensidade a estímulos lesivos à parede do estômago.

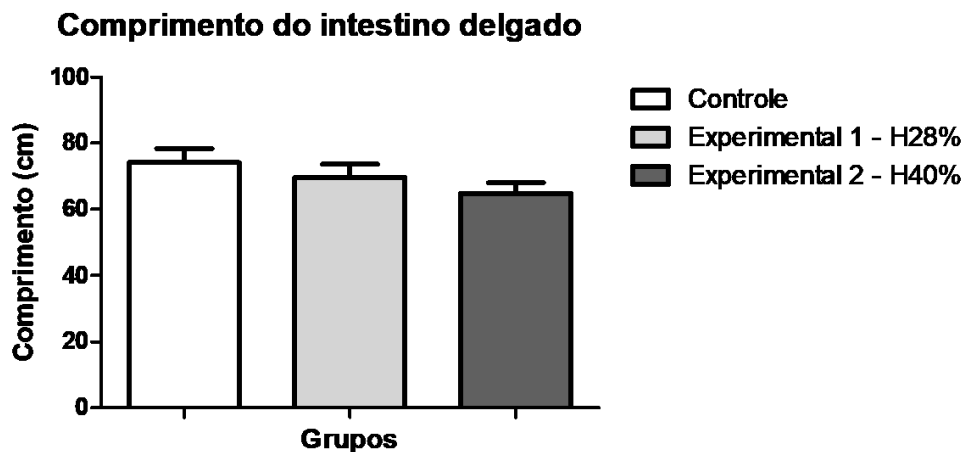
Figura 23 - Gráfico do índice de úlcera/área dos filhotes machos de 30 dias.



Índice de úlcera/área dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=11), E2 (n=10). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. **C: $p<0,01$ versus C.

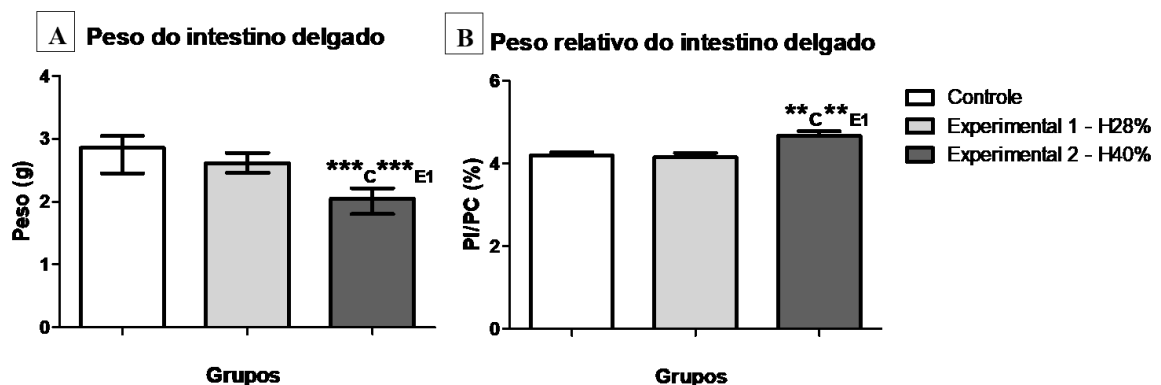
Quanto às análises do intestino delgado constatou-se que o comprimento total (**figura 24**) não foi diferente estatisticamente entre os grupos, mas o peso bruto deste órgão (**Figura 25A**) foi menor no grupo E2. Apesar disso, o peso relativo foi maior em E2 (**Figura 25B**), quando comparado aos demais, demonstrando que houve prejuízo do crescimento corporal e também do intestino delgado dos filhotes de mães que receberam dieta hiperlipídica 40%, sendo que o prejuízo no primeiro foi proporcionalmente maior.

Figura 24 - Gráfico do comprimento do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias.



Comprimento do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=7), E1 (n=9), E2 (n=10). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$.

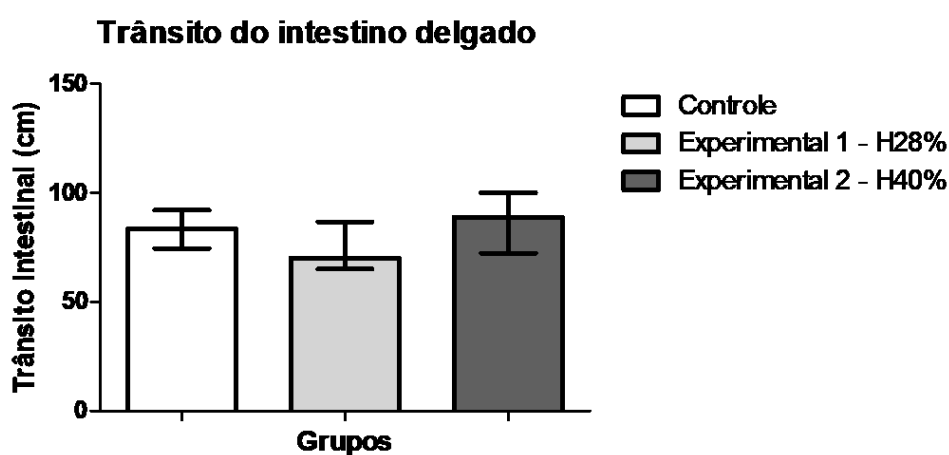
Figura 25 - Gráficos dos pesos bruto (A) e relativo (B) do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias.



A) Peso bruto do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=23), E1 (n=30), E2 (n=31). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. (B) Peso relativo do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=16), E1 (n=20), E2 (n=23). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os dados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. ***C: $p<0,001$ versus C; **C: $p<0,01$ versus C; ***E1: $p<0,001$ versus E1; **E1: $p<0,01$ versus E1.

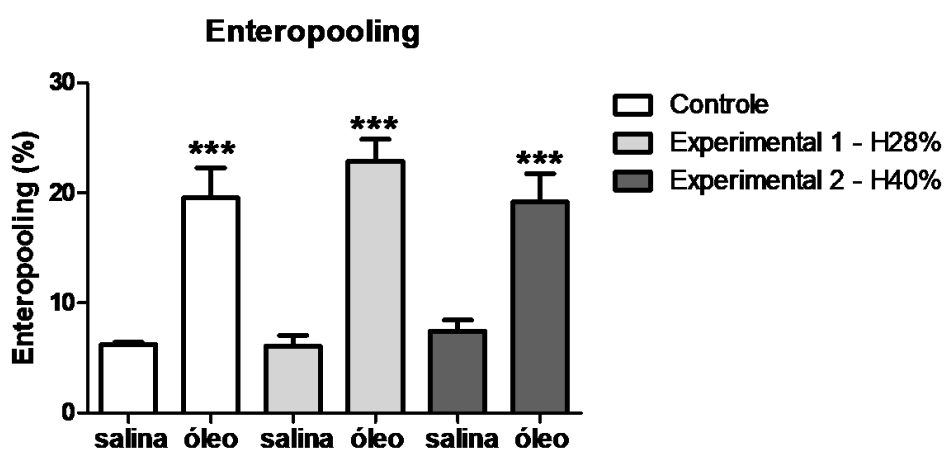
O trânsito no intestino delgado foi avaliado pelo tempo de deslocamento de carvão ativado ao longo da extensão deste órgão e não foram observadas diferenças entre os grupos para este parâmetro (**Figura 26**), nem para a avaliação do enteropooling (**Figura 27**), análise que permite avaliar as capacidades secretora e absorptiva do intestino delgado, como um todo. Em todos os grupos, a resposta ao óleo de rícino foi maior em relação à resposta à salina, mas não houve diferenças entre eles.

Figura 26 - Gráfico do trânsito do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias.



Trânsito do intestino delgado dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=7), E1 (n=9), E2 (n=10). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

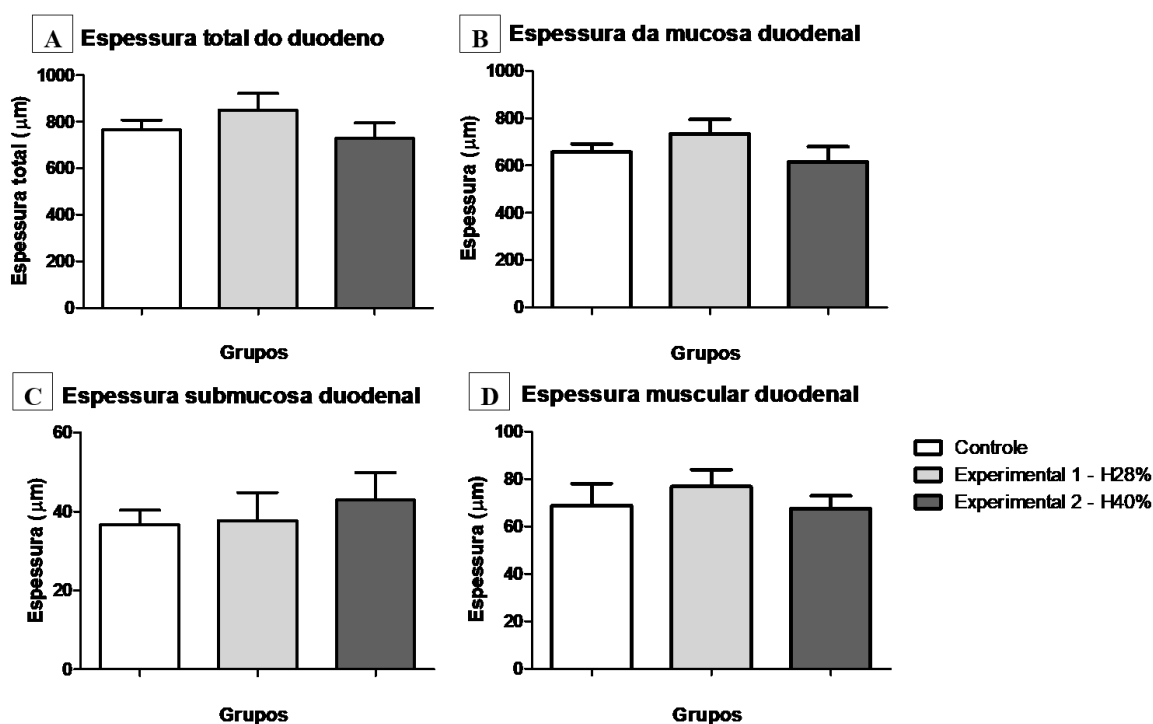
Figura 27 - Gráfico do enteropooling dos filhotes machos de 30 dias.



Enteropooling dos filhotes machos de 30 dias dos grupos Csalina (n=8), Cóleo (n=8), E1salina (n=10), E1óleo (n=10), E2salina (n=11), E2óleo (n=11). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. *** $p<0,05$ versus salina do mesmo grupo.

A oferta de dieta com teores diferentes de lipídeos às mães dos grupos E1 e E2 não alterou a espessura das camadas da parede duodenal dos filhotes (**figura 28**).

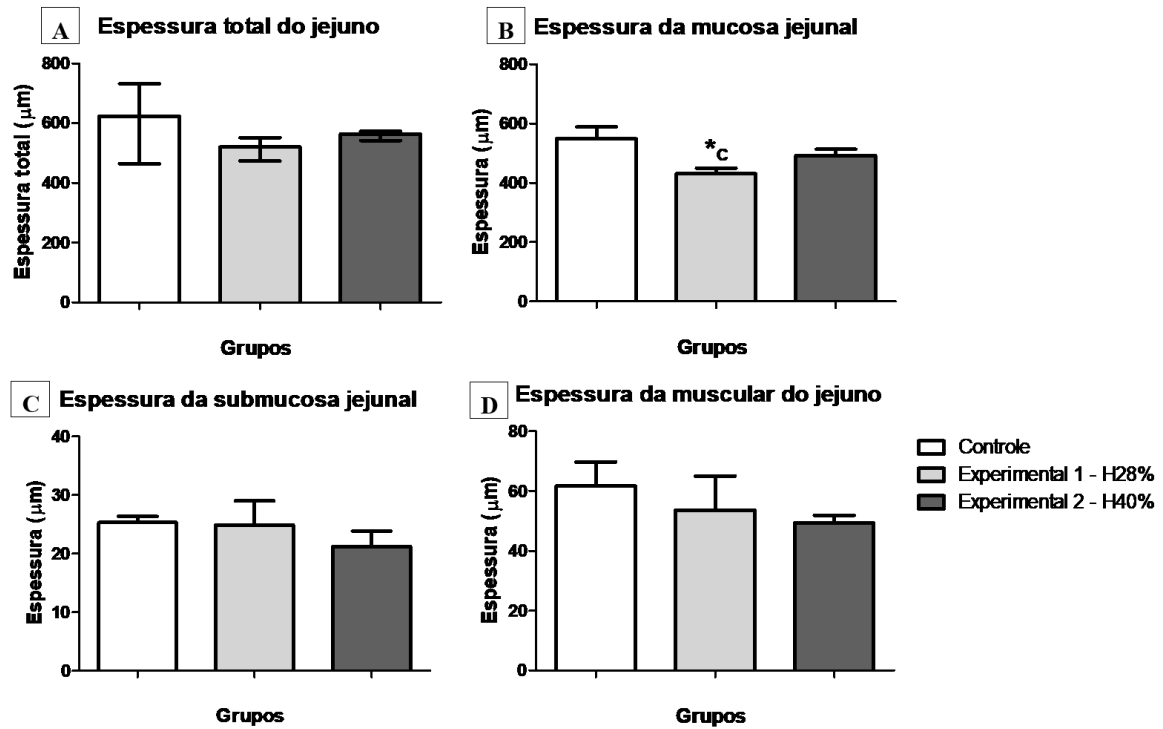
Figura 28 - Gráficos da espessura total (A) e espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do duodeno dos filhotes machos de 30 dias.



(A) Espessura total e espessuras das camadas (B) mucosa, (C) submucosa e (D) muscular do duodeno dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=6), E2 (n=7). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$.

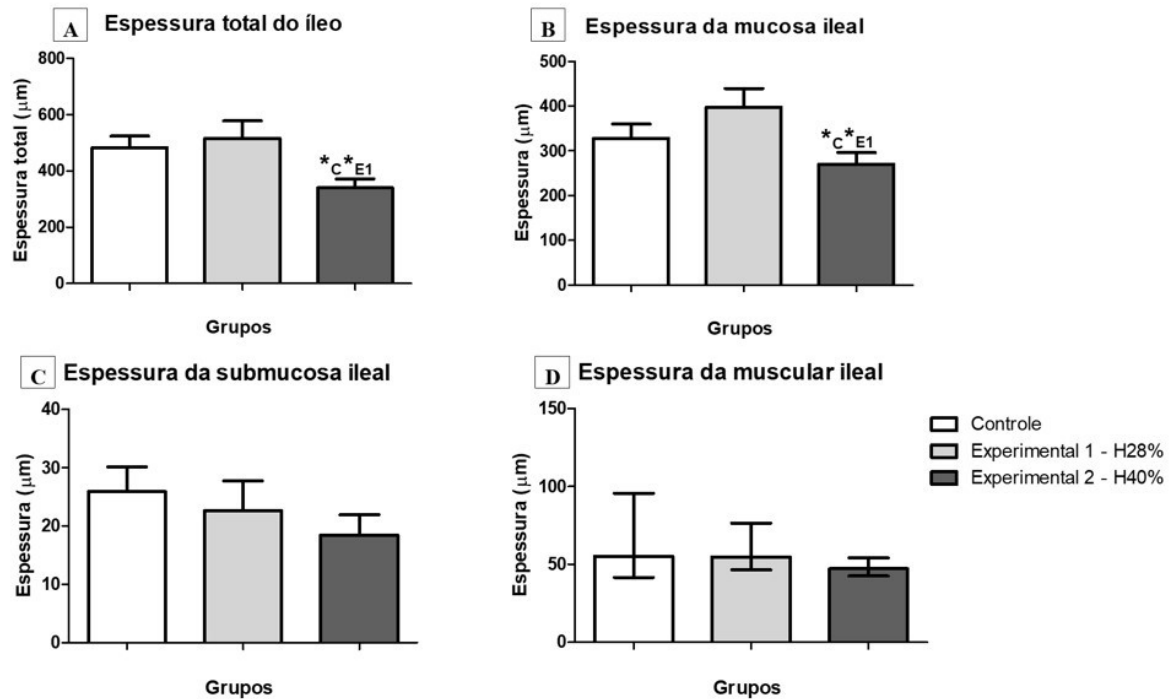
No jejuno observou-se uma redução da mucosa (**figura 29B**) em E1, mas sem impacto na espessura total deste segmento (**figura 29A**). Já no íleo, a espessura total (**figura 30A**) e espessura da mucosa (**figura 30B**) foram menores em E2.

Figura 29 - Gráficos da espessura total (A) e espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do jejuno dos filhotes machos de 30 dias.



(A) Espessura total do jejuno de filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=4), E2 (n=7). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. Espessuras das camadas (B) mucosa, (C) submucosa e (D) muscular do jejuno dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=7), E2 (n=6). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus C.

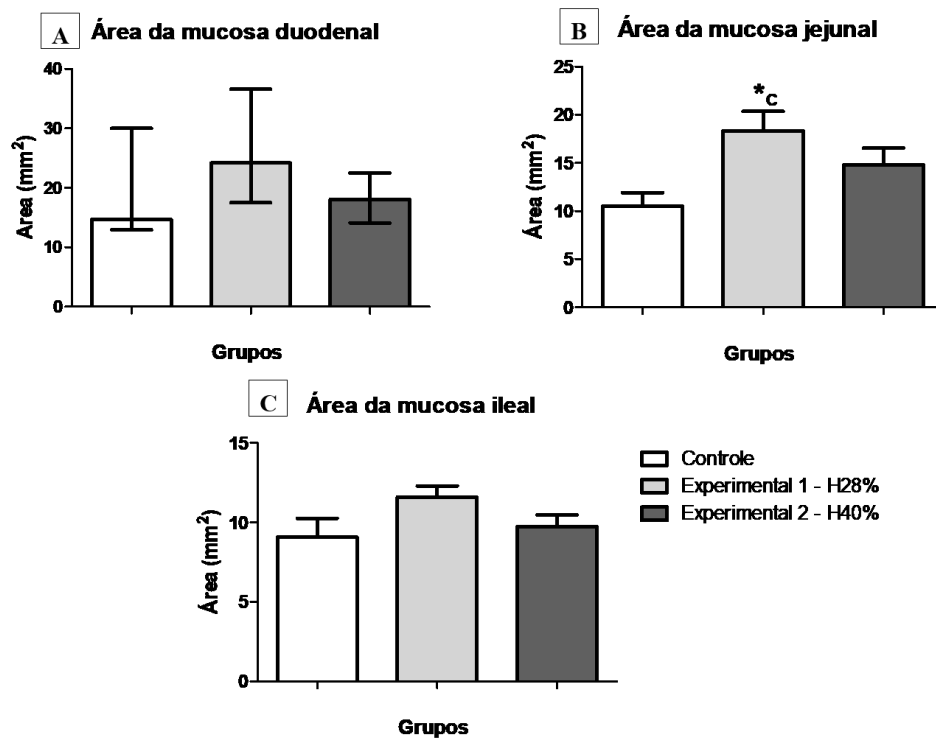
Figura 30 - Gráficos da espessura total (A) e espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do íleo dos filhotes machos de 30 dias.



(A) Espessura total e espessuras das camadas (B) mucosa e (C) submucosa do íleo dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=5), E2 (n=6). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. (D) Espessura da camada muscular do íleo dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=7), E2 (n=6). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus C; *E1: $p < 0,01$ versus E1.

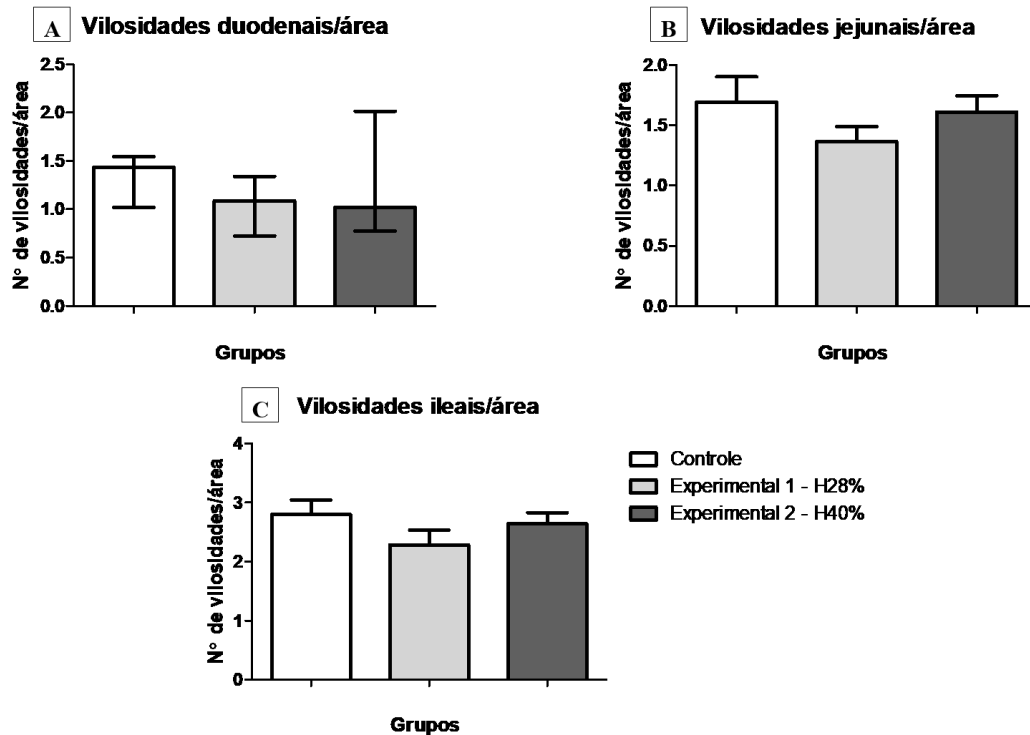
Embora a espessura da mucosa jejunal tenha sido menor no grupo E1, a área desta camada estava aumentada (**figura 32**). Como não houve alterações no número de vilosidades/área no duodeno, jejuno e íleo (**figura 33**), muito provavelmente o aumento da área da mucosa jejunal pode ser explicado pelo aumento no comprimento e ou espessura de suas vilosidades, embora esta análise não tenha sido feita neste trabalho.

Figura 31 - Gráficos da área da mucosa do duodeno (A), jejuno (B) e íleo (C) dos filhotes machos de 30 dias.



(A) Área da mucosa do duodeno dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=6), E2 (n=7). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. (B) Área das mucosas do jejuno dos grupos C (n=6), E1 (n=4), E2 (n=7) e (C) íleo dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=5), E2 (n=7). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. *C: $p < 0,05$ versus C.

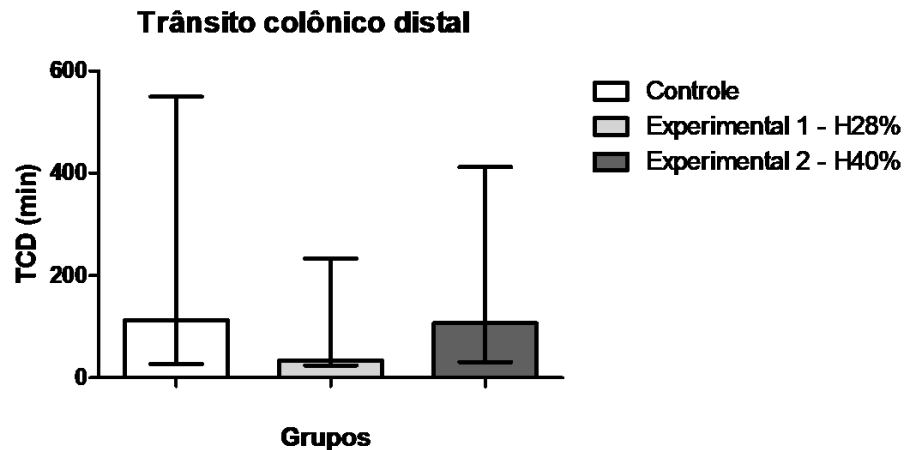
Figura 32 - Gráficos do número de vilosidades/área do duodeno (A), jejuno (B) e íleo (C) dos filhotes machos de 30 dias.



Número de vilosidades/área do (A) duodeno dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=7), E2 (n=6). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. Número de vilosidades/área do (B) jejuno e (C) íleo dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=7), E2 (n=6). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM.

Uma vez que o trânsito colônico distal, avaliado pelo tempo de expulsão de uma esfera de plástico introduzida no ânus dos animais, ter variado muito entre os grupos, não foram registradas diferenças entre eles (**figura 33**)

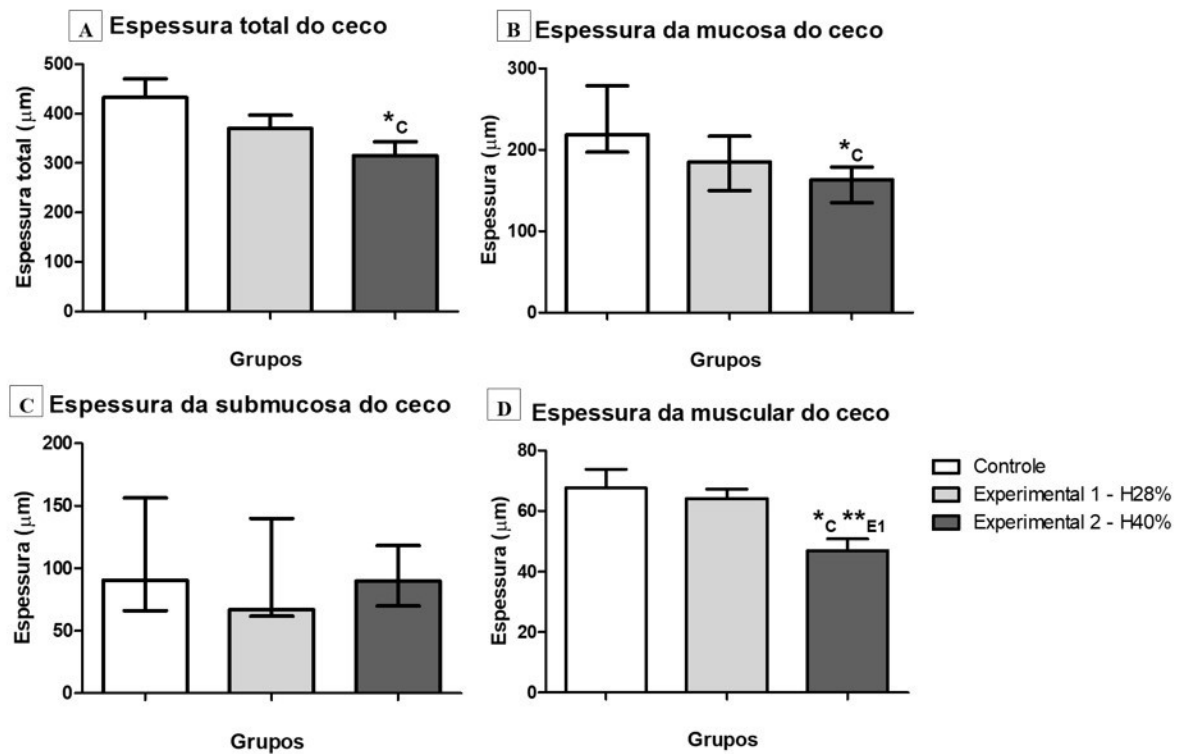
Figura 33 - Gráfico do trânsito colônico distal dos filhotes machos de 30 dias.



Trânsito colônico distal dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=11), E2 (n=9). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

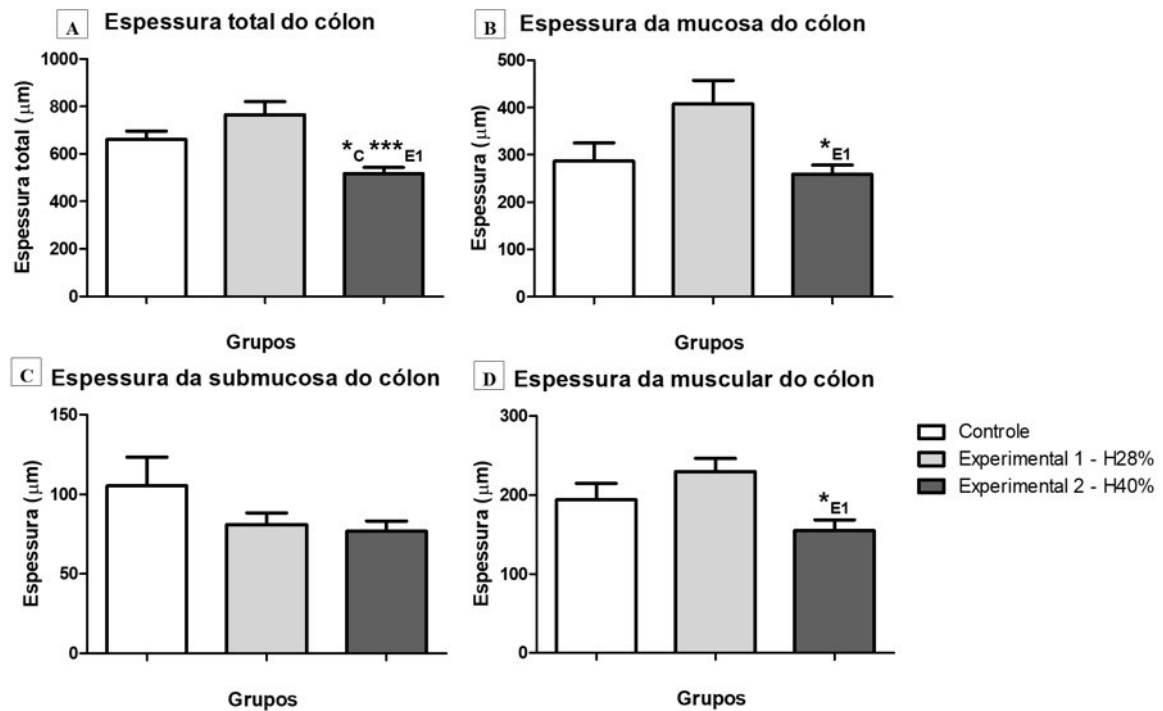
Foi possível observar uma redução da espessura total nas regiões do ceco (**figura 34**) e cólon (**figura 35**) do intestino grosso dos filhotes, cujas mães foram expostas à dieta com teor lipídico de 40%. Tanto no ceco, quanto no cólon esta redução pode ser atribuída à menor espessuras das camadas mucosa e muscular. Embora a espessura total do reto tenha sido menor no grupo E1 em comparação ao C, não foram identificadas alterações significativas nas demais regiões deste segmento (**figura 36**).

Figura 34 - Gráficos da espessura total (A) e das espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do ceco dos filhotes machos de 30 dias.



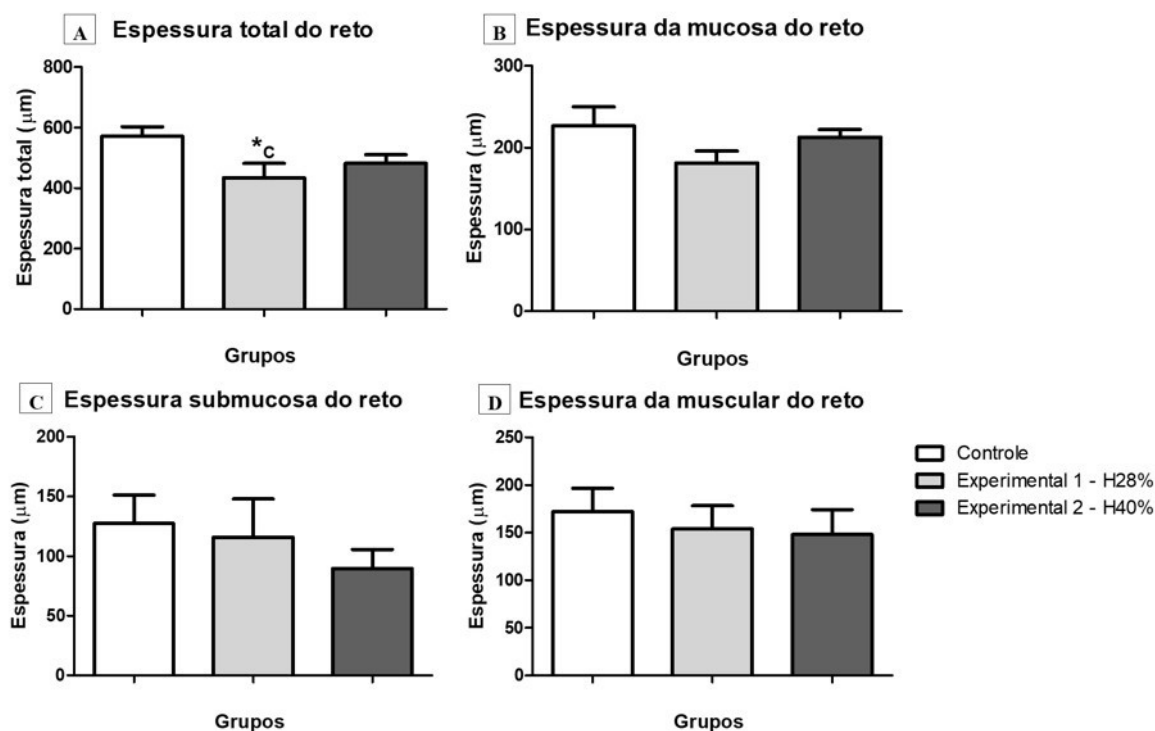
(A) Espessura total e da (C) camada submucosa do ceco dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=7), E1 (n=7), E2 (n=7). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. Espessuras das camadas (B) mucosa e (D) muscular do ceco dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=7), E2 (n=6). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus C; **E1: $p < 0,001$ versus E1.

Figura 35 - Gráficos da espessura total (A) e das espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do cólon dos filhotes machos de 30 dias.



(A) Espessuras total e das camadas (B) mucosa, (C) submucosa e (D) muscular do cólon dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=7), E2 (n=6). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. *C: $p < 0,05$ versus C; ***E1: $p < 0,001$ versus E1; *E1: $p < 0,01$ versus E1.

Figura 36 - Gráficos da espessura total (A) e das espessuras das camadas mucosa (B), submucosa (C) e muscular (D) do reto dos filhotes machos de 30 dias.

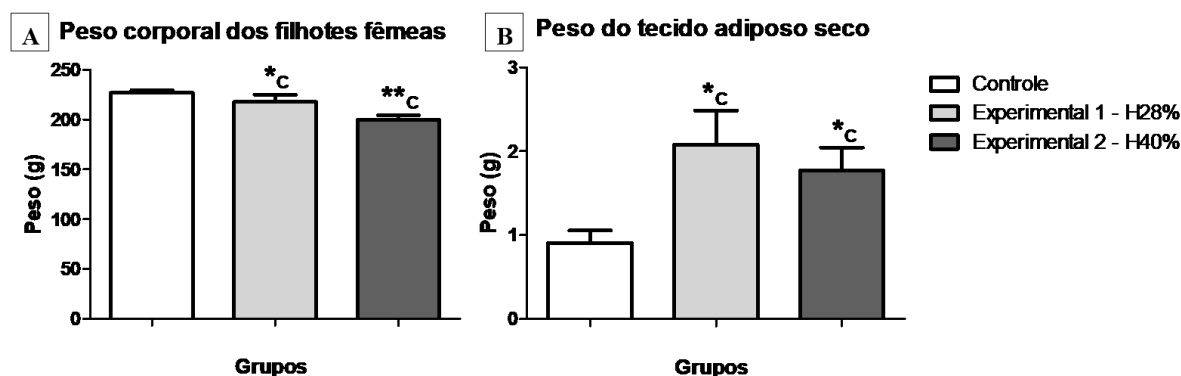


(A) Espessuras total e das camadas (B) mucosa, (C) submucosa e (D) muscular do reto dos filhotes machos de 30 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=5), E2 (n=7). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. *C: $p < 0,05$ versus C.

5.2.2 Dados Metabólicos

Os parâmetros metabólicos foram determinados nos filhotes fêmeas de 120 dias, quando também foram avaliados os pesos corporal e do tecido adiposo. Como já foi visto anteriormente, assim como os filhotes machos de 30 dias de E2 apresentaram menor peso corporal, o mesmo ocorreu para os filhotes fêmeas de 120 dias, no entanto essa alteração agora pôde ser observada nos 2 grupos experimentais (**figura 37A**). Apesar da redução de peso corporal, os animais dos grupos E1 e E2 apresentaram maior quantidade de gordura corporal (tecido adiposo seco) em relação ao C (**figuras 37B e 38**), embora o índice de Lee (**figura 39A**) e a glicemia (**figura 39B**) não tenham sido diferentes entre os grupos.

Figura 37 - Gráficos dos pesos corporal (A) e do tecido adiposo seco (B) dos filhotes fêmeas de 120 dias.



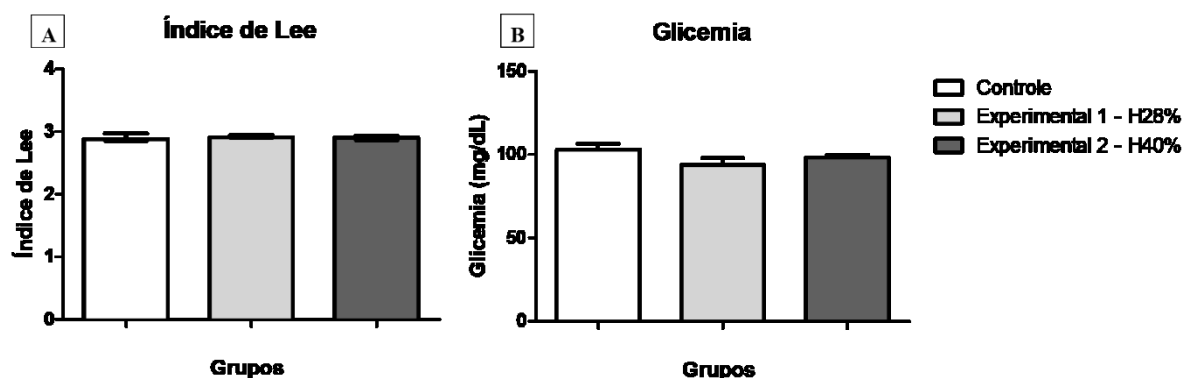
(A) Peso corporal e (B) Peso do tecido adiposo seco dos filhotes fêmeas dos grupos C (n= 16), E1 (n=16) e E2 (n=15). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. **C: $p < 0,01$ versus C; *C: $p < 0,05$ versus C.

Figura 38 - Tecido adiposo após ressecção e secagem na estufa à 45°C por 24 horas.



Fonte: a autora.

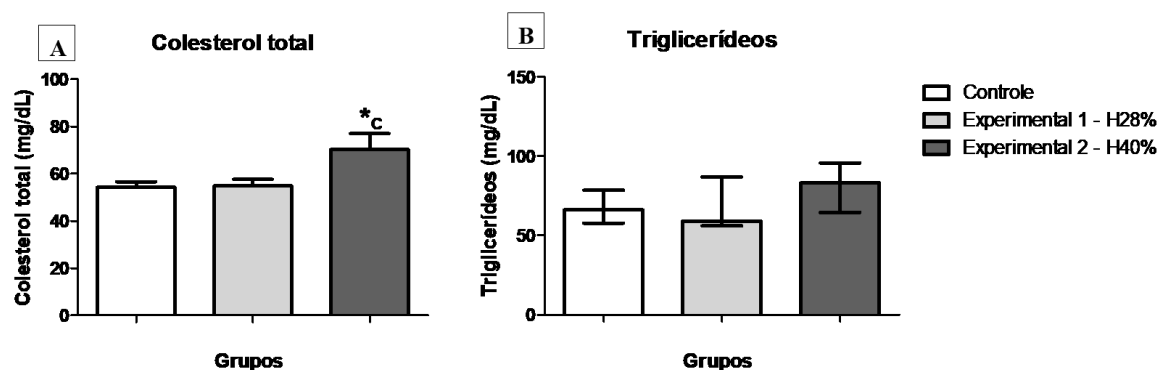
Figura 39 - Gráficos do índice de Lee (A) e da glicemia (B) dos filhotes fêmeas de 120 dias.



(A) Índice de Lee dos filhotes fêmeas de 120 dias dos grupos C (n=16), E1 (n=15) e E2 (n=15). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. e (B) Glicemia dos filhotes fêmeas de 120 dias dos grupos C (n=15), E1 (n=15) e E2 (n=15). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Os níveis de colesterol total foram maiores no grupo E2 em relação ao grupo C (**figura 40A**), embora os triglicerídeos séricos não tenham sido diferentes entre os grupos estudados (**figura 40B**).

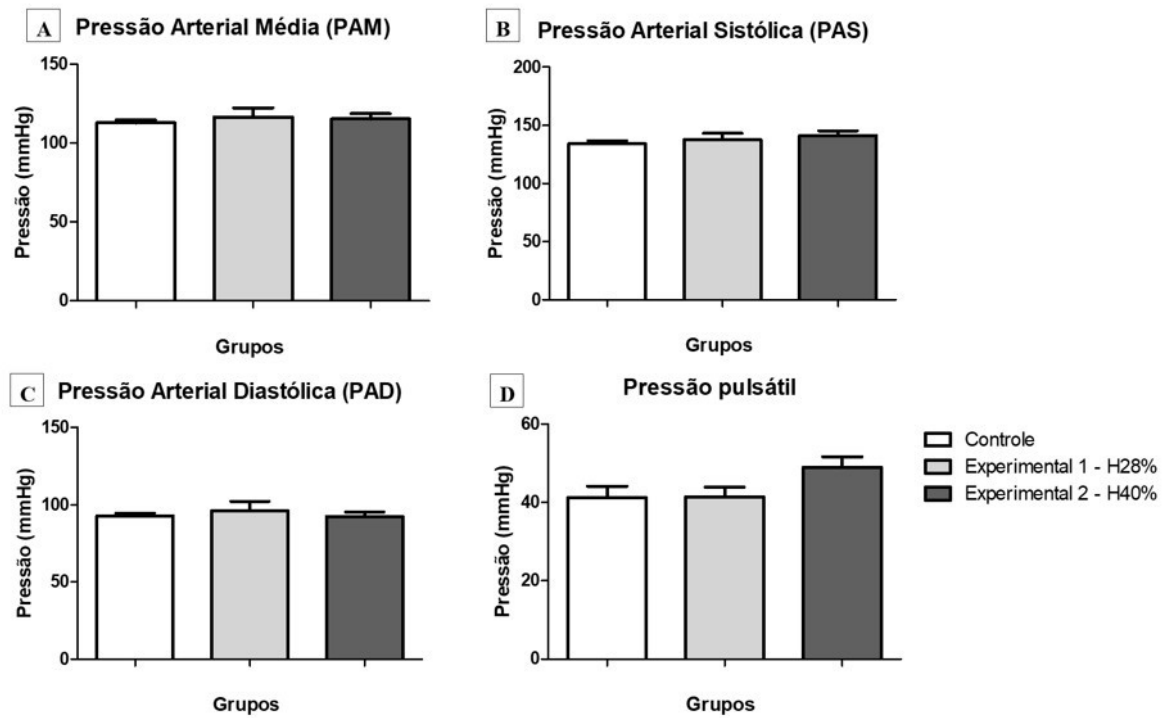
Figura 40 - Gráficos dos níveis plasmáticos de colesterol total (A) e triglicerídeos (B) dos filhotes fêmeas de 120 dias.



(A) Níveis plasmáticos de colesterol total dos filhotes fêmeas de 120 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=7) e E2 (n=10). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. (B) Níveis plasmáticos de triglicerídeos dos filhotes fêmeas de 120 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=7) e E2 (n=10). Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os resultados representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus C.

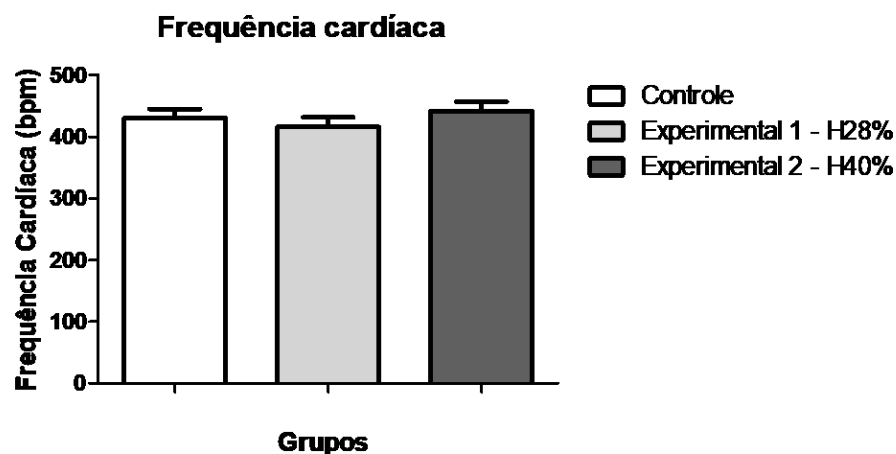
Não foram encontradas diferenças significativas em relação a PAM, PAD, PAS, PAP (figura 41), FC (figura 42) e peso relativo do rim (figura 43) entre os animais.

Figura 41 - Gráficos das pressões arterial média (A), sistólica (B), diastólica (C), e pulsátil (D) dos filhotes fêmeas de 120 dias.



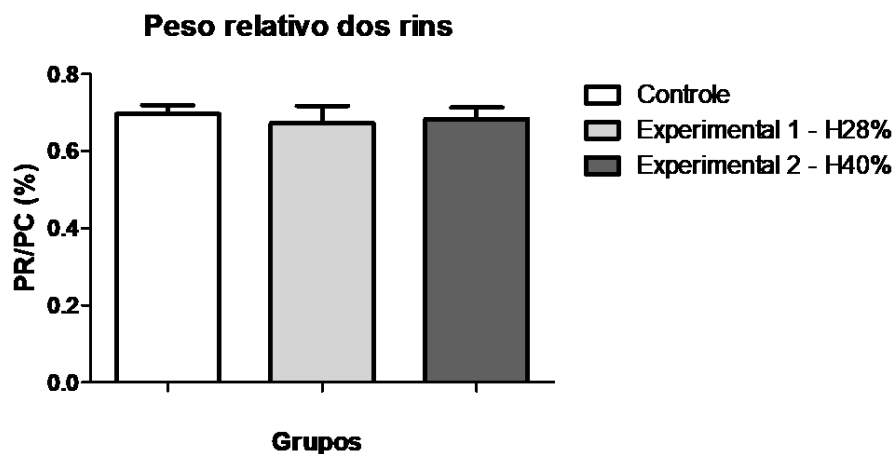
(A) Pressão arterial média, (B) pressão arterial sistólica, (C) pressão arterial diastólica e (D) pressão pulsátil dos filhotes fêmeas de 120 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=10) e E2 (n=9). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM.

Figura 42 - Gráfico da frequência cardíaca dos filhotes fêmeas de 120 dias.



Frequência cardíaca dos filhotes fêmeas de 120 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=10) e E2 (n=9). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

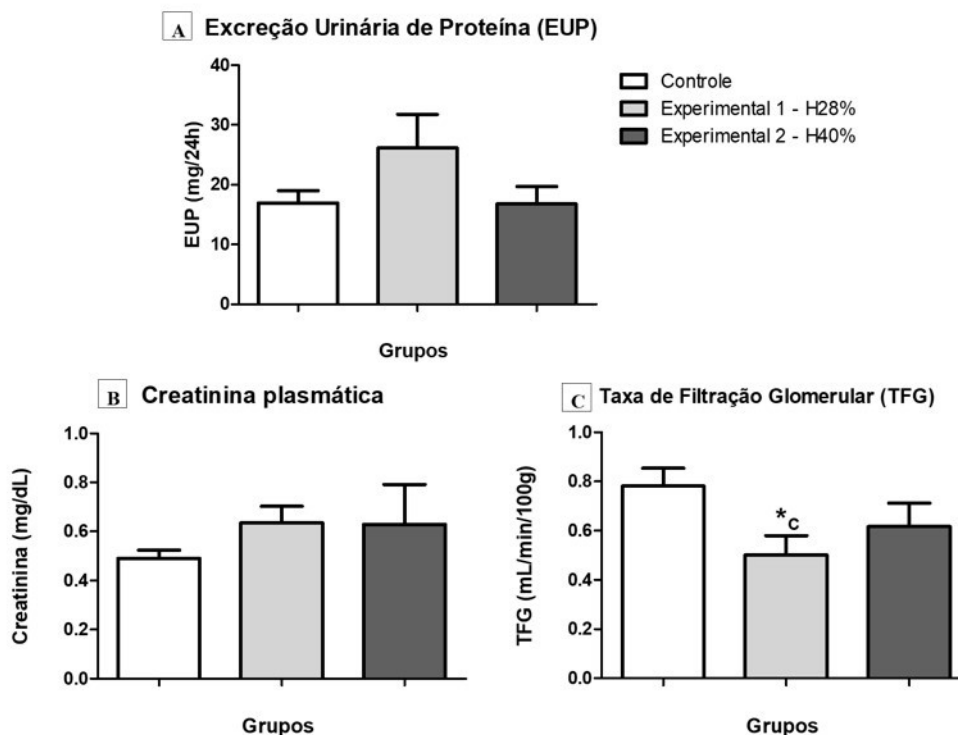
Figura 43 - Gráfico do peso relativo dos rins dos filhotes fêmeas de 120 dias.



Peso relativo dos rins dos filhotes fêmeas de 120 dias dos grupos C (n=8), E1 (n=10) e E2 (n=11). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Os animais dos grupos experimentais apresentaram queda da TFG, de modo mais pronunciado em E1 (**figura 44C**), que aliados à tendência a aumento da creatinina plasmática (**figura 44B**), bem como da excreção de proteínas (**figura 44A**) podem corroborar com uma função renal prejudicada nos filhotes de mães que receberam dieta hiperlipídica.

Figura 44 - Gráficos da creatinina plasmática (A), da taxa de filtração glomerular (TFG) (B) e da excreção urinária de proteína (EUP) dos filhotes fêmeas de 120 dias.



(A) Creatinina plasmática, (B) Taxa de filtração glomerular (TFG) e (C) Excreção urinária de proteína (EUP) dos filhotes fêmeas de 120 dias dos grupos C (n=6), E1 (n=7) e E2 (n=5). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a Média±EPM. *C: $p < 0,05$ versus C.

Em resumo, quando comparados aos animais do grupo controle, nos animais do grupo E1-28% foram identificados maior consumo calórico e lipídico pelas ratas grávidas; menor peso corporal, apesar de maior adiposidade na prole aos 120 dias de idade, e também foi encontrada uma menor TFG nos animais dessa idade, enquanto nos filhotes de 30 dias, foi observado menor peso relativo do estômago, menor IU, parede e mucosa estomacais mais espessas, menor espessura da mucosa jejunal, apesar da maior área apresentada por esse segmento de intestino delgado, e menor espessura da parede retal. Já nos animais do grupo E2-40% foram encontrados menores consumos de ração, de carboidratos e proteínas, acompanhado pelo aumento do consumo lipídico pelas mães; menor peso corporal, apesar de maior adiposidade na prole aos 120 dias de idade; menor peso corporal, além de peso e área do estômago reduzidos, bem como menores IU e peso bruto, mas maior peso relativo do intestino delgado, menor espessura da mucosa ileal, refletindo na espessura total desse segmento, além de menor espessura da mucosa e camada muscular colônica e cecal, conferindo menor espessura total da parede desses segmentos intestinais na prole aos 30 dias de idade.

6. DISCUSSÃO

Nos últimos anos, a programação fetal tem sido muito estudada por abordar as relações entre doenças e eventos patológicos, que compreendem fatores de risco para a síndrome metabólica, e sua origem em potencial durante as janelas críticas de desenvolvimento na vida intrauterina. Além disso, ZHENG e colaboradores (2014) sugeriram que uma dieta materna rica em gorduras, apenas durante a gravidez e lactação, foi capaz de contribuir para o desenvolvimento de obesidade e síndrome metabólica na prole. Nesse sentido, embora a hipótese do presente estudo fosse de que, quanto maior o teor lipídico da dieta materna, maior seria o impacto gastrointestinal e metabólico na saúde dos filhotes em longo prazo, identificou-se que teores lipídicos diferenciados podem causar alterações distintas na prole.

O TGI desempenha um papel crucial no suprimento nutricional do organismo, sendo responsável pela primeira etapa fisiológica de permitir a chegada de nutrientes a todas as células do corpo. O desenvolvimento relativamente precoce desse sistema é uma combinação complexa de crescimento (aumento de massa tecidual e/ou número, bem como tamanho das células) e de maturação (mudanças estruturais e funcionais das células). Desse modo, o desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal do TGI deve ser suficientemente adequado para, então, proporcionar uma integridade ideal para o desempenho apropriado de suas funções no organismo (GUILLOTEAU et al, 2010). Embora os estudos em relação à programação metabólica fetal tenham se intensificado nos últimos anos, reforçando o conhecimento de que as mudanças no desenvolvimento decorrentes desse fenômeno podem se tornar permanentes, predispondo o indivíduo a problemas de saúde, poucos esforços têm sido direcionados em relação ao impacto da programação fetal na estrutura e função do TGI.

Dados da literatura demonstram que a nutrição materna pode influenciar a maturação funcional do TGI durante os períodos pré-natal e pós-natal. (SANGILD et al, 2006. INNIS et al, 2010). No presente estudo, foi identificado que a dieta hiperlipídica materna, além de prejudicar o crescimento do estômago dos filhotes com 30 dias de idade, foi capaz de tornar a camada mucosa gástrica mais espessa no grupo E1, o que possivelmente também pode ter provocado um aumento no número de células superficiais mucosas, com maior produção de muco (SUKHOTNIK et al, 2004; ISHII et al, 2009), fatores que juntos fornecem maior proteção (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017) e podem explicar a menor responsividade desses filhotes aos estímulos lesivos contra a parede do estômago, demonstrado pelo menor IU neste grupo.

A massa e o comprimento dos órgãos digestivos também parecem ser afetados pela nutrição materna (MORTENSEN et al, 2010). Os dados intestinais deste trabalho corroboram

com essa afirmativa, pois apesar da semelhança do comprimento do ID entre os grupos, em E2 foi possível identificar uma redução do peso bruto, acompanhada de aumento do peso relativo do ID nos filhotes de 30 dias de idade, sugerindo que aumentar o teor lipídico da dieta materna, pode ter causado algum distúrbio, principalmente no crescimento corporal e intestinal, uma vez que o peso dos animais de E2 foi menor, acompanhado de um peso relativo do ID maior. Resultados semelhantes foram demonstrados por LIU e colaboradores (2016), cuja prole de leitoas que receberam dieta hipercalórica acrescida com óleo de soja, apesar de apresentar um maior comprimento do intestino delgado ao nascimento, compensou essa diferença ao 28º dia de idade, em que o comprimento do ID não foi diferente entre os demais grupos, assim como no presente estudo.

Segundo HEERWAGEN et al (2010), a exposição intrauterina à sobrecarga de ácidos graxos, especialmente saturados, tem o potencial de desencadear mecanismos epigenéticos relacionados aos micro-RNAs, que atuam como moduladores da expressão gênica, sendo capazes de silenciar mRNAs (ROTTIERS V; NÄÄR AM, 2012; HÁ e KIM, 2014). Em adição, considerando que o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e seu receptor são moléculas extremamente importantes para o desenvolvimento intestinal e para formação de suas funções orgânicas (SPENCER et al, 1995), sugere-se que a dieta hiperlipídica materna provoque alterações epigenéticas envolvendo a atuação dos micro-RNAs, que por sua vez promovam o silenciamento de mRNAs de genes codificadores de IGF-1, levando a prejuízos no crescimento intestinal, demonstrados neste trabalho, pela menor espessura das mucosas jejunal (observada no filhotes de 30 dias do grupo E1) e ileal (identificada no grupo E2). Curiosamente, apesar da camada mucosa dos filhotes expostos à dieta materna com 28% de gordura, ter sido menos espessa, a espessura total da parede, bem como das demais camadas do jejuno não foi diferente dos demais grupos, permitindo inferir que algum outro componente tenha compensado esse déficit de espessura.

Embora a espessura da mucosa jejunal tenha sido menor no grupo E1, a área desta camada estava aumentada, porém sem alterações no número de vilosidades/área. É possível que o aumento da área do jejuno no grupo E1 possa estar relacionado com o aumento no comprimento e ou espessura de suas vilosidades (análise não realizada neste trabalho), apesar de LIU et al (2016) identificarem que, mesmo provocando aumento na altura das vilosidades jejunais ao nascimento dos filhotes, a dieta hiperlipídica materna não foi suficiente para manter essa diferença até o desmame da prole. De modo semelhante, MEYER e colaboradores (2013) demonstraram que a nutrição materna não teve efeito significativo no comprimento das vilosidades de cordeiros neonatos. Por outro lado, CHE et al (2016) observaram uma tendência

de aumento das vilosidades intestinais em fetos de leitoas expostas à dieta hiperlipídica durante a gestação, assim como NAVARRETE; VASQUEZ; DEL-SOL (2015) relataram presença de vilosidades mais longas em intestinos de camundongos alimentados com dieta com 40% de gordura, por 14 semanas.

O aumento no teor lipídico na ração altera a composição dos outros macronutrientes da dieta, geralmente reduzindo a composição de carboidratos e proteínas para coincidir com o aumento de ácidos graxos. Com isso, embora as rações hiperlipídicas apresentadas neste trabalho não sejam consideradas pobres em proteína (pois, para isso deveriam apresentar um conteúdo de aproximadamente 8% de proteínas) (MORTENSEN et al, 2010), alguns resultados encontrados podem ser devido à alteração da proporção nutricional desses elementos.

Embora a avaliação do peso ao nascer dos animais não tenha sido realizada, acredita-se que os filhotes tenham apresentado algum prejuízo no crescimento intrauterino que não foi recuperado, visto que os filhotes de 30 dias do grupo E2, bem como os filhotes de 120 dias em ambos os grupos hiperlipídicos apresentaram menor peso que os controles. Nesse sentido, é possível inferir que apesar das rações hiperlipídicas não serem, conceitualmente, caracterizadas como modelo de restrição proteica, a oferta de proteínas para os animais E1 e E2 foi claramente menor que a oferta desse nutriente para os animais controles. Nesse contexto, sugere-se que o menor teor proteico das rações hiperlipídicas possa ter contribuído para os déficits ponderal e das espessuras intestinais, encontrados no presente estudo, assim como nos estudos com modelo de restrição de crescimento intrauterino (RCIU) (ZHONG et al, 2010).

Pesquisadores destacam que o ômega-6, por meio de seu metabólito eicosanoide PGE2, desempenha um papel relevante na sobrevivência e proliferação das células das criptas e na permeabilidade do intestino grosso (AGUILA et al, 2003; HILDEBRANDT et al, 2009; KIM e HO, 2010; SAMUELSSON et al, 2008). A partir disso, INNIS et al (2010) mostraram que os ácidos graxos dietéticos maternos foram capazes de influenciar a composição da bicamada lipídica das membranas do cólon de recém-nascidos, provocando consequências permanentes, de modo a sensibilizar a resposta do cólon a insultos inflamatórios mais tardiamente. Com isso, sugere-se que além da quantidade, a qualidade da gordura na alimentação pode influenciar as alterações investigadas.

Embora a composição individual de cada ácido graxo das rações estudadas não tenha sido avaliada, é quase evidente que o conteúdo de gordura saturada supere o conteúdo de ácidos graxos mono e poli-insaturados, incluindo ômega-6, devido ao fato da banha de porco ser o principal ingrediente contribuinte para o aumento do teor lipídico das dietas. Isso pode ter

prejudicado o crescimento do intestino grosso, justificando a menor espessura das camadas mucosa e muscular, que resultaram na menor espessura total da parede do cólon e ceco dos filhotes E2, bem como provocou um menor espessamento da parede do reto nos animais do grupo E1. Esses achados são relevantes, pois podem justificar o aumento de lesões anormais, identificadas na mucosa do intestino grosso de camundongos alimentados com dieta com 37,8% de lipídeos, no estudo de ASLAM et al (2010).

Dados encontrados na literatura demonstram que, na grande maioria dos trabalhos, a dieta hiperlipídica é capaz de promover o ganho de peso corporal nos animais que a consome (SPERETA et al, 20116; HONORE et al, 2018; CHOWDHURY et al, 2016; SOARES et al, 2015; HOKKE et al, 2016; GLASTRAS et al, 2018; LIU et al, 2016). No entanto, no presente estudo, as ratas grávidas que consumiram dietas hiperlipídicas apresentaram variação e ganho de peso total durante a gestação, semelhante às mães do grupo controle. A divergência desses resultados pode ser justificada pelo tipo de animal experimental, pela maior composição lipídica da ração utilizada em alguns dos estudos (teor lipídico de 60%) ou ainda pelo tempo, que variou de 115 dias (o que representa o tempo de gestação das leitoas no estudo de LIU et al, 2016) até 14 semanas de exposição à dieta, enquanto que, neste trabalho as ratas foram expostas às dietas hiperlipídicas somente por 42 dias (sendo 21 dias de gestação e outros 21 dias de lactação).

Durante a gestação, as ratas grávidas de E2 reduziram o seu consumo alimentar à medida que a oferta calórica aumentou. Sendo assim, conforme o esperado e identificado em outros estudos realizados pelo grupo de pesquisa do laboratório (DADOS NÃO PUBLICADOS), apesar do consumo médio de ração em gramas entre o grupo E1-H28% e Controle serem semelhantes, o consumo calórico do E1 foi significativamente maior, dado o aumento do consumo lipídico, responsável pelo maior fornecimento energético por grama de ração. Apesar disso, o grupo E2-40% consumiu menos ração que os demais grupos. Esse consumo em gramas foi tão abaixo do esperado, que refletiu no consumo calórico e lipídico destes animais.

A digestão e absorção lipídica são mais complexas e mais lentas, devido, principalmente à secreção de hormônio colecistoquinina (CCK), feita por células do intestino delgado, que na presença de partículas derivadas desse nutriente, promove a contração do piloro até que seu processamento no duodeno seja completo, retardando o esvaziamento gástrico (BERNE e LEVY, 2018; GUYTON e HALL, 2017) e, consequentemente conferindo um alto poder de saciedade aos lipídeos. Sendo assim, o teor excessivo de lipídeos presente na ração hiperlipídica 40%, e o fato, muito bem estabelecido, de que ratos *Wistar* se alimentam apenas para atender

as suas demandas energéticas, pode justificar o consumo reduzido de ração no grupo E2 em relação ao E1.

Um aumento do tamanho dos depósitos de gordura e dos adipócitos foi revelado por meio da análise histológica das secções do tecido adiposo visceral de machos *Wistar* alimentados com dieta com 40% de lipídeos, por 12 semanas (HONORE et al, 2018). Os adipócitos possuem um mecanismo regulador em que, através da produção de leptina, ocorre a inibição da ingestão alimentar (GUYTON e HALL, 2017). Esse também pode ser um fator explicativo para o menor consumo de ração dos animais do grupo E2, embora a adiposidade corporal nas ratas grávidas não tenha sido avaliada e as mesmas tenham permanecido pouco tempo com as dietas experimentais.

DE PAULA-SIMINO et al (2017) através do cálculo do índice de Lee e da avaliação do tecido adiposo epidérmico e retroperitoneal, de filhotes machos de camundongos *Swiss*, alimentados com dieta com 24% de lipídeos, observaram uma composição corporal alterada, com aumento importante de adiposidade ao 82º dia de idade. Esses achados são semelhantes aos encontrados nos filhotes fêmeas de 120 dias de idade dos grupos E1 e E2 que, apesar de serem menos pesados que o grupo C e não apresentarem índice de Lee alterado, a adiposidade corporal desses animais foi significativamente maior.

A adipogênese ocorre primordialmente durante o desenvolvimento pré-natal e pós-natal (WABITSCH, 2000). Além disso, devido ao acúmulo excessivo de tecido adiposo, particularmente visceral, a obesidade está associada a um estado de inflamação crônica de baixo grau, caracterizado por níveis elevados de marcadores inflamatórios, incluindo proteína C-reativa (PCR), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que atingem diferentes tecidos, incluindo cérebro e provocando alterações metabólicas, favorecendo o desenvolvimento, principalmente, de doenças cardiovasculares, (COOKE et al, 2016; DE KLOET et al, 2013; ESLER et al (2006); SPERETTA et al, 2012; WENSVEEN et, 2015; ERIKCI e HOTAMISLIGIL, 2016; LYONS; KENNEDY; ROCHE, 2016).

Nesse sentido, os níveis pressóricos dos filhotes fêmeas de 120 dias foram avaliados, porém sem apresentarem alterações significativas. Curiosamente, vários estudos utilizando delineamento experimental semelhante, com oferta materna de dieta com teor de 20 a 26% de gordura, para ratas *Sprague-Dawley*, demonstraram que a descendência adulta exibiu disfunção endotelial vascular e aumento da pressão sanguínea arterial (KHAN et al, 2004; TAYLOR et al, 2003; KHAN et al, 2003). Além disso, em outros trabalhos realizados no laboratório (DADOS NÃO PUBLICADOS), também se observou um aumento de pressão arterial sistólica

nos filhotes fêmeas de 90 dias, de mães que receberam dieta hiperlipídica 28% durante a gestação e lactação. No entanto, essa divergência de resultados pode ser explicada pelo uso de técnicas metodológicas distintas (diretas ou indiretas) e que, em sua maioria, pode superestimar a pressão sanguínea, ou ainda pelo uso de linhagens de ratos e camundongos diferenciadas.

Em adição, existem relatos que descrevem as alterações no controle de pressão arterial, como mudanças dependentes do tempo de exposição à dieta (SAMUELSSON et al, 2008; ELAHI et al, 2009; TAN et al, 2015). Além do mais, SPERETTA et al (2016) observaram um aumento muito discreto (de 11 a 13 mmHg) na pressão arterial média de machos *Holtzman*, mesmo com o consumo de dieta hiperlipídica (teor lipídico 19%) durante 7 semanas. Com isso, é possível que 42 dias não tenham sido suficientes para provocar grandes alterações pressóricas nos filhotes no período de tempo estudado.

A creatinina é considerada um biomarcador tardio de lesão renal, uma vez que, frequentemente, sofre alterações somente diante de uma lesão substancial do parênquima renal (WU e PARIKH, 2008). Além disso, YUSUF e colaboradores (2000) relacionam a TFG reduzida, mesmo que sem sinais evidentes de DRC, ao aumento de desfechos cardiovasculares adversos. Sendo assim, devido a TFG, que foi reduzida significativamente no grupo E1, que também apresentou tendência ao aumento de creatinina plasmática e de maior excreção urinária de proteínas, é possível inferir que provavelmente a pressão arterial seja afetada mais tardiamente nesse grupo.

Por ser um órgão altamente vascular e metabolicamente ativo, o rim está particularmente suscetível ao impacto de insultos, durante o período de desenvolvimento intrauterino (RICHTER et al, 2016). Além disso, CHONG e YOSYPIV (2012) descrevem a obesidade materna como um fator de risco para complicações no desenvolvimento renal, bem como de DRC na prole adulta. Como mencionado anteriormente, demonstrou-se que, diferentemente do grupo E2, a dieta hiperlipídica materna com teor de 28% foi capaz de promover redução da TFG dos filhotes ao 120º dia de vida.

Segundo GLASTRAS et al (2017), os rins de descendentes de roedores obesos demonstraram alterações deletérias, incluindo aumento de marcadores de estresse oxidativo, inflamação e deposição de lipídeos. Em adição, DECLÈVES et al (2013) associa o acúmulo glomerular e tubular renal de lipídeos, incluindo colesterol e fosfolipídios, ao desenvolvimento de DRC. É possível que diante do excesso de lipídeos, os mesmos não fiquem armazenados somente no tecido adiposo, sendo, então, liberados na corrente sanguínea e depositados em órgãos-alvo (fígado, músculo, pâncreas, rins, entre outros), onde as citocinas inflamatórias

secretadas pelos adipócitos provocam lesão celular, levando a anormalidades metabólicas que podem resultar em resistência insulínica, doenças cardiovasculares e DRC (XU et al, 2003).

CHOWDHURY e colaboradores (2016) em um modelo de obesidade paterna descreveram sinais precoces de lesão renal, com perda de bordas em escova e descamação das células tubulares no interior do lúmen renal, bem como aumento do acúmulo de triglicerídeos no tecido renal, sem observarem hipertrigliceridemia evidente na prole masculina adulta. Curiosamente, no presente estudo, os animais do grupo E1, apesar de apresentarem TFG reduzida, não apresentaram aumento de lipídeos plasmáticos. Já os animais do grupo E2, embora não tenham apresentado alterações na função renal, tiveram aumento significativo de colesterol sérico, sugerindo que a TFG nesse grupo, possa ser prejudicada futuramente.

Os dados referentes ao peso corporal da prole exposta ao consumo materno de dieta hiperlipídica são conflitantes. CERF; LOUW; HERRERA (2015) identificaram que o peso dos fetos de 20 dias, de ratas *Wistar* que foram alimentadas durante a gestação com dieta hiperlipídica (com teor de 40%) foi semelhante ao peso dos fetos controles. Outro estudo, cujos filhotes foram expostos à dieta materna com 40% de gordura, também encontrou recém-nascidos com peso inalterado, apesar de aumento de percentual de gordura (CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ, 2011). Já DE PAULA-SIMINO et al (2017) e ZHENG et al (2014) observaram que, embora os descendentes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica apresentassem maior peso no momento do desmame (21 dias de idade) ou mais tardiamente (28 dias), em ambos os estudos os filhotes do grupo experimental nasceram com baixo peso.

No entanto, no presente estudo, os filhotes machos do grupo E2, com 30 dias de idade apresentaram menor peso corporal em relação aos demais grupos. O mesmo fenômeno foi observado em outro trabalho realizado no laboratório (DADOS NÃO PUBLICADOS) e que, apesar de, não ter identificado baixo peso ao nascer, ao avaliar os filhotes de 1 dia de idade, fornece subsídio para inferir-se que, no presente estudo os filhotes tenham apresentado algum prejuízo no crescimento intrauterino que não tenha sido recuperado mais tardiamente. Sendo assim, do mesmo modo que foi sugerido para as mães do grupo E2 que consumiram menos ração, acredita-se que o excesso de tecido adiposo visceral (não avaliado nos animais de 30 dias), conferindo uma alta produção de leptina pode ter levado a um menor consumo de leite materno, resultou dessa forma, em um menor peso corporal ao desmame. Além disso, o menor peso bruto do intestino delgado aliado à menor espessura da camada mucosa do íleo, segmento intestinal onde a maioria dos lipídeos da dieta são processados e absorvidos (NAVARRETE;

VÁSQUEZ; DEL-SOL, 2015) visualizada no grupo E2, pode ter sido responsável por uma menor absorção nutricional, justificando o déficit ponderal nesses animais.

Com base nos resultados encontrados foi possível observar que a exposição intrauterina à dieta materna rica em gorduras foi capaz de promover grandes alterações gastrintestinais e metabólicas na prole aos 30 e 120 dias de idade, respectivamente, e, que se apresentaram de maneira diferente, mediante o aumento do teor lipídico, e foram observadas na prole, de acordo com o seu envelhecimento. Assim, é possível sugerir que ao avaliar esses animais mais tardiamente, muito provavelmente outras alterações seriam encontradas e/ou as existentes seriam evidenciadas.

Além disso, é impossível afirmar, ao certo, que seja o excesso de lipídeos, o responsável pelas alterações encontradas. Possivelmente, a desproporção dos macronutrientes, conferindo um desequilíbrio nutricional importante, seja a explicação para todos os efeitos observados nesse modelo de programação fetal. Sendo assim, pesquisas futuras neste campo devem buscar uma visão mais integrada dos efeitos complexos de como as composições de macronutrientes alterados na dieta materna afetam as origens do desenvolvimento de doenças na prole.

7. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho permitem concluir que o desequilíbrio nutricional provocado pelo consumo materno de dietas hiperlipídicas (com teores de 28% e 40% de gorduras), durante a gestação e lactação, pode resultar em importantes repercussões metabólicas e gastrintestinais na prole de ratas Wistar, demonstrando que o padrão nutricional materno, quando alterado, é capaz de programar doenças futuras na prole de diferentes idades.

8. REFERÊNCIAS¹

- AAGAARD-TILLERY, K.M et al. **Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: maternal diet modifies the primate fetal epigenome.** J Mol Endocrinol, v. 41, p. 91–102, 2008. <https://doi.org/10.1677/JME-08-0025>
- AGUILA, M.B. et al. **Dietary effect of different highfat diet on rat liver stereology.** Liver Int, v. 23, p. 363-370, 2003. <https://doi.org/10.1034/j.1478-3231.2003.00858.x>
- AHLIN, K et al. **Non-infectious risk factors for different types of cerebral palsy in termborn babies: A population-based, case-control study.** BJOG, v. 120, p. 724–731. 2013. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12164>
- AINGE, H et al. **A systematic review on animal models of maternal high fat feeding and offspring glycaemic control.** Int J Obes, v. 35, p. 325–35. 2011. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.149>
- ALFARADHI, M.Z; Ozanne, S.E. **Developmental programming in response to maternal overnutrition.** Front Genet, v. 2, p. 27. 2011. <https://doi.org/10.3389/fgene.2011.00027>
- ARMITAGE, J.A; POSTON, L; TAYLOR, P.D. **Developmental origins of obesity and the metabolic syndrome: The role of maternal obesity.** Front Horm Res, v. 36, p. 73–84. 2008. <https://doi.org/10.1159/000115355>
- ASHINO, N.G et al. **Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver.** J Nutr Biochem, v. 23, p. 341–8. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.12.011>
- ASLAM, M.N. et al. **A mineral-rich red algae extract inhibits polyp formation and inflammation in the gastrointestinal tract of mice on a high-fat diet.** Integr Cancer Ther, v. 9, p. 93-99. 2010. <https://doi.org/10.1177/1534735409360360>
- AZIZI, F et al. **Prevalence of metabolic syndrome in an urban population: Tehran lipid and glucose study.** Diabetes Res Clin Pract, v. 61(1), p. 29–37. 2003. [https://doi.org/10.1016/S0168-8227\(03\)00066-4](https://doi.org/10.1016/S0168-8227(03)00066-4)
- BARISIONE, M et al.. **Body weight at developmental age in siblings born to mothers before and after surgically induced weight loss.** Surg Obes Relat Dis, v. 8, p. 387–391. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2011.09.016>
- BARKER, D. J. P. et al. **Growth in utero and serum colestherol concentrations in adult life.** BMJ, v. 307, p. 1524-1527, 1993. <https://doi.org/10.1136/bmj.307.6918.1524>
- BARKER, D.J. **In utero programming of chronic disease.** Clin Sci (Lond), v. 95, p. 115-28. 1998. <https://doi.org/10.1042/cs0950115>

¹ Baseado na ABNT NBR 6023/2002

BASTOS, M.G. et al. **Doença Renal Crônica: Problemas e Soluções**, J Bras Nefrol, v. 26, n. 4, p. 202-215, 2004.

BERNARD, M et al. **Transition nutritionnelle et maladies chroniques non transmissibles liées à l'alimentation dans les pays en développement**. Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé, v. 12(1), p. 45-55. 2002.

BERNARDIS LL, PATTERSON BD. **Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions**. J Endocrinol, v. 40(4), p. 527-8. 1968. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0400527>

BERNE R. M.; LEVY M. N. **Fisiologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

BOYLAN, M.R. et al. **Measures of Adiposity Are Associated with Increased Risk of Peptic Ulcer**. Clin Gastroenterol Hepatol, v. 12(10), p. 1688–1694. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.03.021>

BRASIL. Ministério da Saúde. **População Brasileira tem excesso de peso**. (2014). Disponível em <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/260-mais-da-metade-da-populacao-brasileira-tem-excesso-de-peso>>. Acesso em 08 fev. 2019

BURGUENO, A.L et al. **Maternal high-fat intake during pregnancy programs metabolic- syndrome-related phenotypes through liver mitochondrial DNA copy number and transcriptional activity of liver PPARGC1A**. J Nutr Biochem, v. 24, p. 6–13. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.12.008>

CAMILLERI M. **Peripheral mechanisms in appetite regulation**. Gastroenterology, v. 148, p. 1219–1233. 2015. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.09.016>

CAMILLERI, M; MALHI, H; ACOSTA, A. **Gastrointestinal Complications of Obesity**. Gastroenterology, v. 152, p. 1656–1670. 2017. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.12.052>

CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ, E. et al. **The guinea pig as a model for metabolic programming of adiposity**. Am. J. Clin. Nutr, v. 94, p. 1838S–1845S, 2011. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.000794>

CATALANO, P.M; EHRENBERG, H.M. **The short- and longterm implications of maternal obesity on the mother and her offspring**. BJOG v. 113, p. 1126–1133. 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2006.00989.x>

CATHELINE, J.M. **Prevalence and co-occurrence of upper and lower functional gastrointestinal symptoms in patients eligible for bariatric surgery**. Obes Surg, v. 22(3), p. 403–10. 2012. <https://doi.org/10.1007/s11695-011-0396-z>

CERF, M.E; LOUW, J; HERRERA, E. **High Fat Diet Exposure during Fetal Life Enhances Plasma and Hepatic Omega-6 Fatty Acid Profiles in Fetal Wistar Rats.** *Nutrients*, v. 7, p. 7231-7241. 2015. <https://doi.org/10.3390/nu7095337>

CHARLTON M. **Nonalcoholic fatty liver disease: a review of current understanding and future impact.** *Clin Gastroenterol Hepatol*, v. 2, p. 1048–58. 2004. [https://doi.org/10.1016/S1542-3565\(04\)00440-9](https://doi.org/10.1016/S1542-3565(04)00440-9)

CHAVATTE-PALMER P.; TARRADE A.; ROUSSEAU-RALLIARD D. **Diet before and during pregnancy and offspring health: The importance of animal models and what can be learned from them.** *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 13,586, p. 1-14, 2016. <https://doi.org/10.3390/ijerph13060586>

CHE, L. et al. **Maternal high fat intake affects the development and transcriptional profile of fetal intestine in late gestation using pig model.** *Lipids in Health and Disease*, v. 15, p. 90. 2016. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0261-0>

CHEONG J. N. et al. **Programming of maternal and offspring disease: impact of growth restriction, fetal sex and transmission across generations.** *The Journal of Physiology*, v.594, p. 4727-4740, 2016. <https://doi.org/10.1113/JP271745>

CHONG, E.; YOSYPIV, I.V. **Developmental programming of hypertension and kidney disease.** *Int. J. Nephrol*, p. 760580. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/760580>

CHOWDHURY, S.S. et al **Paternal High Fat Diet in Rats Leads to Renal Accumulation of Lipid and Tubular Changes in Adult Offspring.** *Nutrients*, v. 8, p. 521. 2016. <https://doi.org/10.3390/nu8090521>

COOKE, A.A. et al. **Fatty acids and chronic low grade inflammation associated with obesity and the metabolic syndrome.** *Eur. J. Pharmacol.*,2016. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.04.021>

CRISHAM JANIK, M.D, et al. **Maternal diagnosis of obesity and risk of cerebral palsy in the child.** *J Pediatr*, v. 163, p. 1307– 1312. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.06.062>

DE KLOET, A.D. et al. **Neuroimmune communication in hypertension and obesity: a new therapeutic angle?** *Pharmacol. Ther*, v, 138, p. 428–440. 2013.

DE PAULA-SIMINO, L.A.P et al. **Lipid overload during gestation and lactation can independently alter lipid homeostasis in offspring and promote metabolic impairment after new challenge to high-fat diet.** *Nutrition & Metabolism*, v. 14, p. 16. 2017. <https://doi.org/10.1186/s12986-017-0168-4>

DECLÈVES, A.E. et al. **Regulation of lipid accumulation by AMK-activated kinase in high fat diet-induced kidney injury.** *Kidney Int*, v. 85, p. 611–623, 2013. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.462>

DODD, J.M et al. **Antenatal interventions for overweight or obese pregnant women: a systematic review of randomised trials.** *BJOG*, v. 117, p. 1316-1326. 2010.

DOHERTY N. S; HANCOCK A. A. **Role of alpha-2 adrenergic receptors in the control of diarrhea and intestinal motility.** Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 225 (2), p. 269-274, 1983.

DRAKE A. J.; WALKER B. R. **The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk.** Journal of Endocrinology, v.180, p.1-16, 2004. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1800001>

DUARTE, A.C.G.d.O. et al. **Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos.** Rev Nutr, v. 19, p. 341-348. 2006. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000300005>

DUTTA S, SENGUPTA P. **Men and mice: relating their ages.** Life Sci, v. 152, p. 244–8. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.10.025>

EATON, Douglas C.; POOLER, John P. **Funções renais, anatomia e processos básicos.** In: _____. Fisiologia Renal de Vander ed. 6. Porto Alegre: Artmed, cap. 1, p. 11-28. 2006.

EBISUI L; FONTES, R.S; LAPCHIK, V.B.V. Rato. In: Lapchik VBV, Mattaraia VBM, Ko GM (Eds). **Cuidados e manejo de animais de laboratório.** São Paulo: Atheneu, v. 229, p.50. 2009.

ELAHI, M.M. **Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice.** British Journal of Nutrition, v. 102, p. 514–519. 2009. <https://doi.org/10.1017/S000711450820749X>

ERIKCI, E; HOTAMISLIGIL, G.S. **Lipid signaling and lipotoxicity in metabolic inflammation: indications for metabolic disease pathogenesis and treatment.** J.LipidRes. 2016.

ESLER, M. et al. **Mechanisms of sympathetic activation in obesity-related hypertension,** Hypertension, v. 48, p. 787–796. 2006. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000242642.42177.49>

ESLICK, G.D. **Gastrointestinal symptoms and obesity: a meta-analysis.** Obesity Reviews, v. 13, p. 469–479. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2011.00969.x>

FLEGAL, K.M et al. **Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999–2010.** JAMA, v. 307, p. 491– 497. 2012. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.39>

FLUES, K. **Influência da integridade dos barorreceptores nos ajustes morfofuncionais cardíacos à hipertensão espontânea em ratos.** 2011. 123f. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

GABORY, A.; ATTIG, L.; JUNIEN, C. **Developmental programming epigenetics.** Am J Clin Nutr, v. 94, p. 1943–52, 2011. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.000927>

GANU, R.S et al. **Early origins of adult disease: Approaches for investigating the programmable epigenome in humans, nonhuman primates, and rodents.** ILAR J, v. 53, p. 306–321. 2012.

GLASTRAS, S.J. et al. **The renal consequences of maternal obesity in offspring are overwhelmed by postnatal high fat diet.** PLoS ONE, v. 12, p. e0172644. 2017.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172644>

GLASTRAS, S.J. **Maternal obesity increases the risk of metabolic disease and impacts renal health in offspring.** Bioscience Reports, v. 38, p. BSR20180050. 2018.
<https://doi.org/10.1042/BSR20180050>

GLUCKMAN, P.D; HARDING, J.E. **The physiology and pathophysiology of intrauterine growth retardation.** Horm Res, v. 48, p. 11e6. 1997.

GLUCKMAN, P.D, et al. **Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease.** N Engl J Med, v. 359, p. 61–73. 2008. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0708473>

GUILLOTEAU, P. et al. **Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man?** Nutritional Research Reviews, v. 23, p. 4-22, 2010.
<https://doi.org/10.1017/S0954422410000077>

GUYTON A. C.; HALL J. E. **Tratado de fisiologia médica.** 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HÁ, M; KIM, V.N. **Regulation of microRNA biogenesis.** Nat Rev Mol Cell Biol, v. 15, p. 509–24. 2014. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>

HANS-RUDOLF, B; KLEIN, S. **Advances in Obesity: Causes, Consequences, and Therapy.** Gastroenterology, v. 152, p. 1635–1637. 2017.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.03.045>

HARRISON A. P. et al. **Gastrointestinal tract models and techniques for use in safety pharmacology.** J Pharmacol Toxicol Methods, v. 49, p. 187-199, 2004.
<https://doi.org/10.1016/j.vascn.2004.02.008>

HEERWAGEN, M.J et al. **Maternal obesity and fetal metabolic programming: A fertile epigenetic soil.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v. 299, p. R711–R722. 2010.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00310.2010>

HILDEBRANDT, M.A et al. **High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity.** Gastroenterology, v. 137, p. 1716-1724. 2009.

HINKLE, S.N et al. **Associations between maternal prepregnancy body mass index and child neurodevelopment at 2 years of age.** Int J Obes (Lond), v. 36, p. 1312–1319. 2012.
<https://doi.org/10.1038/ijo.2012.143>

HONORÉ, S.M. et al. **Smallanthus sonchifolius (Yacon) Flour Improves Visceral Adiposity and Metabolic Parameters in High-Fat-Diet-Fed Rats.** Journal of Obesity, p.15, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5341384>

HOSSAIN , P; KAWAR, B; EL NAHAS, M. **Obesity and Diabetes in the Developing World — A Growing Challenge.** The New England Journal of Medicine, Reino Unido, v. 356, p. 213 – 215, jan. 2007.

HOSSEINI-ESFAHANI, F et al. **Metabolic Syndrome: Findings from 20 Years of the Tehran Lipid and Glucose Study.** Int J Endocrinol Metab. October, v. 16(4), p. e84771. 2018.

INNIS, S.M. et al. **Perinatal lipid nutrition alters early intestinal development and programs the response to experimental colitis in young adult rats.** Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol, v 299, p. G1376–G1385. 2010. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00258.2010>

ISHII K. et al. **Medium-chain triglycerides enhance mucous secretion and cell proliferation in the rat.** J Gastroenterol, v. 44, p. 204–11. 2009. <https://doi.org/10.1007/s00535-008-2308-0>

JACKSON, C.M et al. **Exposure to maternal overnutrition and a high-fat diet during early postnatal development increases susceptibility to renal and metabolic injury later in life.** Am J Physiol Renal Physiol, v. 302, p. F774-783. 2012. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00491.2011>

JEHN M, BREWIS A. **Paradoxical malnutrition in mother-child pairs: Untangling the phenomenon of over- and under-nutrition in underdeveloped economies.** Econ Hum Biol v. 7, p. 28–35. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ehb.2009.01.007>

JUNQUEIRA, L.C.U; CARNEIRO, J. **Histologia Básica.** 13ª Ed. Editora Guanabara Koogan,. 542p. 2017.

KELLY, T, et al. **Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030.** Int J Obes (Lond), v. 32, p. 1431–1437. 2008. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.102>

KHAN, I. et al. **Predictive adaptive responses to maternal high-fat diet prevent endothelial dysfunction but not hypertension in adult rat offspring.** Circulation, v. 110, p. 1097–1102. 2004. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000139843.05436.A0>

KHAN, I.Y et al. **Gender-linked hypertension in offspring of lard-fed pregnant rats.** Hypertension, v. 41, p. 168–175. 2003.

KIM, Y.S; HO, S.B. **Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress.** Curr Gastroenterol Rep, v. 12, p. 319-330. 2010. <https://doi.org/10.1007/s11894-010-0131-2>

KIM, H et al. **Influence of overweight and obesity on upper endoscopic findings.** J Gastroenterol Hepatol, v. 22, p. 477–481. 2007.

KIM, S.Y et al. **Trends in pre-pregnancy obesity in nine states, 1993–2003.** Obesity (Silver Spring), v. 15, p. 986–993. 2007.

KOSLO et al. **Centrally administered bombesin affects gastrointestinal transit and colonic bead expulsion through supraspinal mechanisms.** J Pharmacol Exp Ther., v. 238(1), p. 62-7, 1986.

KRAKOWIAK, P et al. **Maternal metabolic conditions and risk for autism and other neurodevelopmental disorders.** Pediatrics, v. 129, p. e1121–e1128. 2012.
<https://doi.org/10.1542/peds.2011-2583>

KRAL, J.G et al. **Large maternal weight loss from obesity surgery prevents transmission of obesity to children who were followed for 2 to 18 years.** Pediatrics, v. 118, p. e1644–e1649. 2006.

KWON E. J.; KIM Y. J. **What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health.** Obstet Gynecol Sci, v. 60(6), p. 506-519, 2017.
<https://doi.org/10.5468/ogs.2017.60.6.506>

KYLE, U.G, PICHARD C. **The Dutch famine of 1944–1945: a pathophysiological model of long-term consequences of wasting disease.** Curr Opin Clin Nutr Metab Care, v. 9(4), p. 388–394. 2006. <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000232898.74415.42>

LEDDY, M.A, POWER, M.L, SCHULKIN, J. **The impact of maternal obesity on maternal and fetal health.** Rev Obstet Gynecol, v. 1, p. 170–8. 2008.

LIU, P et al. **A Maternal High-Energy Diet Promotes Intestinal Development and Intrauterine Growth of Offspring.** Nutrients, v. 8, p. 258. 2016.
<https://doi.org/10.3390/nu8050258>

LOCATELLI, F. **Renal Manifestations in the Metabolic Syndrome.** J Am Soc Nephrol., v. 17, p 581-585, 2006. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005121332>

LUCAS, A. **Programming by early nutrition in man.** In: Bock GR, Whelan J, editors. **The childhood environment and adult disease.** Chichester: John Wiley & Sons, p.38-55. 1991.

LYONS,C.L; KENNEDY, E.B.; ROCHE, H.M. **Metabolic inflammation- differential modulation by dietary constituents.** Nutrients, v. 8, p. E247. 2016.
<https://doi.org/10.3390/nu8050247>

MARIE-STÉPHANIE CLERGET-FROIDEVAUX, L.M.S; **High-Fat Diet and Pregnancy: Are You Ready To Take Risks for Your Offspring?**, Endocrinology, v. 158(9), p. 2716–2718. 2017. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00611>

MASUYAMA, H; HIRAMATSU, Y. **Effects of a high-fat diet exposure in utero on the metabolic syndrome-like phenomenon in mouse offspring through epigenetic changes in**

adipocytokine. ene expression. Endocrinology, v. 153, p. 2823–30. 2012.
<https://doi.org/10.1210/en.2011-2161>

MCARDLE, H.J. et al. **Fetal Programming: Causes and Consequences as Revealed by Studies of Dietary Manipulation in Rats – A Review.** PlacentaTrophoblast Research, v.. 27(A), 2006.

MEHTA, S., et al. **The association between maternal obesity and neurodevelopmental outcomes of offspring.** J Pediatr, v. 165, p. 891–896. 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.07.003>

MEYER, A.M. et al. **Maternal nutritional plane and selenium supply during gestation impact visceral organ mass and intestinal growth and vascularity of neonatal lamb offspring.** J. Anim. Sci, v. 91, p. 2628–2639. 2013. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5953>

MORTENSEN, E.L.K. **Maternal preconceptional nutrition leads to variable fat deposition and gut dimensions of adult offspring mice (C57BL/6JBom).** International Journal of Obesity, v.34, p. 1618–1624. 2010. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.91>

NAVARRETE, J; VÁSQUEZ, B; DEL-SOL, M. **Morphoquantitative analysis of the Ileum of C57BL/6 mice (Mus musculus) fed with a high-fat diet.** Int J Clin Exp Pathol, v. 8(11), p. 4649-14657. 2015.

NERI C, EDLOW AG. **Effects of Maternal Obesity on Fetal Programming: Molecular Approaches.** Cold Spring Harb Perspect Med, v. 6(2), p. a026591. 2015.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026591>

O'NEILL, S.; O'DRISCOLL, L. **Metabolic syndrome: A closer look at the growing epidemic and its associated pathologies.** Obes. Rev, v. 16, p. 1–12. 2015.
<https://doi.org/10.1111/obr.12229>

OGDEN, C.L et al. **Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011–2012.** JAMA, v. 311, p. 806–14. 2014.

ORNELLAS, F et al. **Programming of obesity and comorbidities in the progeny: lessons from a model of diet-induced obese parents.** PLoS One, v. 10, p. e0124737. 2015.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124737>

PACE, L.A; CROWE, S.E. **Complex Relationships Between Food, Diet, and the Microbiome.** Gastroenterol Clin North Am, v. 45(2), p. 253-65. 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.02.004>

PAIVA, L.V.d et al . **Obesidade materna em gestações de alto risco e complicações infecciosas no puerpério.** Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo, v. 58(4), 2012.

PAN, C et al. **Is prepregnancy obesity associated with risk of cerebral palsy and epilepsy in children?** J Child Neurol, v. 29, p. NP196–NP201. 2014.
<https://doi.org/10.1177/0883073813510971>

PICKETT-BLAKELY, O; UWAKWE, L; RASHID, F. **Obesity in Women The Clinical Impact on Gastrointestinal and Reproductive Health and Disease Management.** Gastroenterol Clin N Am, v. 45, p. 317–331. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.02.008>

PRADO L. C., SILVA D. B., de OLIVEIRA-SILVA G. L., HIRAKI K. R., CANABRAVA H. A., BISPO-DA-SILVA L. B. **The gastroprotective effects of Eugenia dysenterica (Myrtaceae) leaf extract: the possible role of condensed tannins.** Biol Pharm Bull. 2014;37(5):722-30. <https://doi.org/10.1248/bpb.b13-00514>

RABADÁN-DIEHL C.; NATHANIELSZ P. **From mice to men: research models of developmental programming.** J Dev Orig Health Dis, v. 4, p. 3-9, 2013.
<https://doi.org/10.1017/S2040174412000487>

REZENDE, LP. **Efeitos do hipotireoidismo materno no desenvolvimento e funcionamento gastrointestinal da prole jovem de ratos Wistar.** 2018. 60f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas) – Instituto de Ciências Biomédicas de Uberlândia, Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

RICHTER, V.F.I. et al. **The role of maternal nutrition, metabolic function and the placenta in developmental programming of renal dysfunction.** Clin. Exp. Pharmacol. Physiol, v. 43, p. 135–141. 2016. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12505>

ROBERT et al. **Enteropooling assay: a test for diarrhea produced by prostaglandins.** Prostaglandins, v. 11(5), p. 809-28, 1976. [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(76\)90189-1](https://doi.org/10.1016/0090-6980(76)90189-1)

RODRIGUEZ, A et al. **Maternal adiposity prior to pregnancy is associated with ADHD symptoms in offspring: Evidence from three prospective pregnancy cohorts.** Int J Obes (Lond), v. 32, p. 550–557. 2008. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803741>

ROSS, M.G; DESAI, M.. **Developmental programming of offspring obesity, adipogenesis, and appetite.** Clin Obstet Gynecol, v. 56, p. 529–536. 2013.
<https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e318299c39d>

ROTTIERS V; NÄÄR AM. **MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders.** Nat Rev Mol Cell Biol, v. 13, p. 239–50. 2012. <https://doi.org/10.1038/nrm3313>

RUEHL-FEHLERT, C. et al. **Guias revisados para amostragem e corte de órgãos em ratos e camundongos - parte 1.** Exp Toxicol Pathol. v. 55(2-3), p. 91-106. 2003.
<https://doi.org/10.1078/0940-2993-00311>

SÁ, N.N.B.d; MOURA, E.C.d. **Excesso de peso: determinantes sócio demográficos e comportamentais em adultos, Brasil, 2008.** Cad Saúde Pública, Rio de Janeiro, v. 27(7), p. 1380-92, jul. 2011.

SAMUELSSON, A.M. et al. **Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming.** Hypertension, v. 51, p. 383–392. 2008.

SANGILD, P.T. Gut responses to enteral nutrition in preterm infants and animals. Exp. Biol. Med, v. 231, p. 1695–1711. 2006. <https://doi.org/10.1177/153537020623101106>

SARTORI, C et al. **Epigenetics in Cardiovascular Regulation.** In: Roach R., Hackett P., Wagner P. (eds) **Hypoxia.** Advances in Experimental Medicine and Biology, v. 903, 2016. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7678-9_4

SAVINO, A et al. **Mini Review: Obesity-Related Renal Injury in Childhood.** Hormone Research in Paediatric, Itália, v. 73, p. 303-311, 2010.

SCHELLONG K, et al. **Birth weight and long-term overweight risk: Systematic review and a meta-analysis including 643,902 persons from 66 studies and 26 countries globally.** PLoS ONE, v. 7, p. e47776. 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047776>

SEABRA G, Padilha PdC, Queiroz JAd, Saunders C: **Sobrepeso e obesidade pré-gestacionais: prevalência e desfechos associados à gestação.** Rev Bras Ginecol Obstet, v. 33, p. 348-353. 2011.

SECKL, J. R. **Prenatal glucocorticoids and long-term programming.** European Journal of Endocrinology, v. 151, p. 49-62, 2004. <https://doi.org/10.1530/eje.0.151u049>

SEKI, Y et al. **In utero exposure to a high-fat diet programs hepatic hypermethylation and gene dysregulation and development of metabolic syndrome in male mice.** Endocrinology, v. 158(9), p. 2860–2872. 2017. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00334>

SMITH, J et al. **Effects of maternal surgical weight loss in mothers on intergenerational transmission of obesity.** J Clin Endocrinol Metab, v. 94, p. 4275–4283. 2009. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0709>

SOARES, A et al. **Intestinal and neuronal myenteric adaptations in the small intestine induced by a high-fat diet in mice.** BMC Gastroenterolog, v. 15, p. 3. 2015.

SOOKOLIAN, S et al. **Fetal metabolic programming and epigenetic modifications: a systems biology approach.** Pediatric Research, v. 73 (4), p. 531-542. 2013. <https://doi.org/10.1038/pr.2013.2>

SPARANO, S et al. **Being macrosomic at birth is an independent predictor of overweight in children: Results from the IDEFICS study.** Matern Child Health J, v. 17, p. 1373–1381. 2013. <https://doi.org/10.1007/s10995-012-1136-2>

SPENCER, J.A. et al. **Third trimester fetal growth and umbilical venous blood concentrations of IGF-1, IGFBP-1, and growth hormone at term.** Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed., v. 73, p. F87–F90. 1995. <https://doi.org/10.1136/fn.73.2.F87>

SPERETTA, G.F. et al. **Resistance training prevents the cardiovascular changes caused by high-fat diet.** Life Sciences, v. 146, p. 154–162. 2016.

SPERETTA, G.F. et al. **The effects of exercisemodalities on adiposity in obese rats**, Clinics v, 67, p. 1469–1477. 2012

SUKHOTNIK I, et al. **Effect of dietary fat on early morphological intestinal adaptation in a rat with short bowel syndrome**. Pediatr Surg Int, v. 20, p. 419–24. 2004. <https://doi.org/10.1007/s00383-004-1168-9>

TAN, H.C. et al. **Mother's pre-pregnancy BMI is na importante determinant of adverse cardiometabolic risk in childhood**. Pediatr.Diabetes, v. 16, p. 419–426. .2015.

TANAKA, A.C.d.A. **A importância da associação obesidade e gravidez**. Rev Saúde Pública, v. 15, p. 291-307. 1981. <https://doi.org/10.1590/S0034-89101981000300006>

TANDA, R et al. **The impact of prepregnancy obesity on children's cognitive test scores**. Matern Child Health J, v. 17, p. 222–229. 2012. <https://doi.org/10.1007/s10995-012-0964-4>

TARRADE A. et al. **Placental contribution to nutritional programming of health and diseases: epigenetics and sexual dimorphism**. The Journal of Experimental Biology, v. 218, p. 50-58, 2015. <https://doi.org/10.1242/jeb.110320>

TAYLOR, P.D et al. **Uterine artery function in pregnant rats fed a diet supplemented with animal lard**. Exp. Physiol., v. 88, p. 389–398. 2003. <https://doi.org/10.1113/eph8802495>

TENENBAUM-GAVISH, K. HOD, M. **Impact of maternal obesity on fetal health**. Fetal Diagn Ther , v. 34, p. 1–7. 2013. <https://doi.org/10.1159/000350170>

TOKUYAMA, H et al. **Role of mineralocorticoid receptor/Rho/Rho-kinase pathway in obesity-related renal injury**. International Journal of Obesity, Tokyo, v. 36, p. 1062-1071, 2012. <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.232>

TRAMONTE, R et al. **Alterações da mucosa intestinal em ratos: estudo morfométrico em três diferentes tratamentos após indução experimental de sepse abdominal aguda**. Acta Cirúrgica Brasileira, v.19 (2) 2004. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502004000200007>

UDDIN, S. J. et al. **Antidiarrhoeal activity of methanol extract of the barks of *Xylocarpus moluccensis* in castor oil and magnesium sulphate-induced diarrhea models in mice**. J Ethnopharmacol, v. 101, p. 139-143, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.006>

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP/NEPA, 2011. 161 p. Disponível em http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf

VAN LIESHOUT, R.J; TAYLOR, V.H; BOYLE, M.H. **Pre-pregnancy and pregnancy obesity and neurodevelopmental outcomes in offspring: A systematic review**. Obes Rev v. 12, p. e548–e559. 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2010.00850.x>

VIGUERAS, R.M et al. **Histological characteristics of the intestinal mucosa of the rat during the first year of life**. Laboratory Animals, v. 33, p. 393-400. 1999.

WABITSCH M. **The acquisition of obesity: insights from cellular and genetic research.** Proc Nutr Soc, v. 59, p. 325–330 2000. <https://doi.org/10.1017/S0029665100000367>

WENSVEEN, F.M. et al. **NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance.** Nat. Immunol. v. 16, p. 376–385. 2015.

WHITAKER, R.C et al. **Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity.** N Engl J Med, v. 337, p. 869–73. 1997. <https://doi.org/10.1056/NEJM199709253371301>

WHO. **Obesity and overweight: Media centre.** 2013.

WILLIAMS, L et al. **Animal models of in utero exposure to a high fat diet: a review.** Biochim Biophys Acta, v. 1842, p. 507–19. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.07.006>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic.** Geneva, 2000.

WU, I.; PARIKH, C.R. **Screening for kidney diseases: Older measures versus novel biomarkers.** Clin. J. Am. Soc. Nephrol., v. 3, p. 1895–1901. 2008. <https://doi.org/10.2215/CJN.02030408>

XU, H et al. **A long-term maternal diet intervention is necessary to avoid the obesogenic effect of maternal high-fat diet in the offspring.** Journal of Nutritional Biochemistry, v. 62 p. 210–220. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.09.008>

XU, H. et al. **Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance.** J. Clin. Invest, v. 112, p. 1821–1830. 2003. <https://doi.org/10.1172/JCI200319451>

YAMAMOTO, S; WATABE, K; TAKEHARA, T. **Is obesity a new risk factor for gastritis?** Digestion, v. 85, p. 108–110. 2012. <https://doi.org/10.1159/000334680>

YUSUF, S et al. **Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The heart outcomes prevention evaluation study investigators.** N. Eng. J. Med., v. 342, p. 145–153. 2000. <https://doi.org/10.1056/NEJM200001203420301>

ZAMBRANO E, et al. **Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats.** J Physiol, v. 588, p. 1791–9. 2010. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.190033>

ZHANG, T et al. **Long-term impact of temporal sequence from childhood obesity to hyperinsulinemia on adult metabolic syndrome and diabetes: The Bogalusa Heart Study.** Sci. Rep, v. 7, p. 43422. 2017. <https://doi.org/10.1038/srep43422>

ZHENG, J. et al. **Maternal High-Fat Diet Modulates Hepatic Glucose, Lipid Homeostasis and Gene Expression in the PPAR Pathway in the Early Life of Offspring.** Int. J. Mol. Sci, v. 15, p. 14967–14983. 2014. <https://doi.org/10.3390/ijms150914967>

ZHONG, X et al. **Heat shock protein 70 is upregulated in the intestine of intrauterine growth retardation piglets.** Cell Stress and Chaperones, v. 15, p. 335–342. 2010.
<https://doi.org/10.1007/s12192-009-0148-3>

ANEXO



Universidade Federal de Uberlândia

– Comissão de Ética na Utilização de Animais –

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado “Exposição intrauterina a dieta hiperlipídica, com diferentes teores de lipídeos, e suas repercussões renais, gastrintestinais, cardiovasculares e metabólicas: um modelo de programação fetal em ratos Wistar”. protocolo nº 054/18, sob a responsabilidade de Ana Paula Coelho Balbi – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADA pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião 24 de Agosto de 2018.

(We certify that the project entitled “Exposição intrauterina a dieta hiperlipídica, com diferentes teores de lipídeos, e suas repercussões renais, gastrintestinais, cardiovasculares e metabólicas: um modelo de programação fetal em ratos Wistar”, protocol 054/18, under the responsibility of - Ana Paula Coelho Balbi involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of August 24th, 2018).

Vigência do Projeto	Início: 01/09/2018 Término: 20/08/2020
Espécie/Linhagem/Grupos Taxonômicos	Rato heterogênico - Wistar
Número de animais	150
Peso/Idade	180g a 350g/ Adultos e Filhotes
Sexo	Machos e Fêmea
Origem/Local	Centro de Bioterismo e Experimentação Animal (CBEA) - UFU
Local onde serão mantidos os animais:	Departamento de Fisiologia (DEFIS) do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM)- UFU

Uberlândia, 29 de agosto de 2018

Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão
Coordenador da CEUA/UFU