

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE BIOMEDICINA

ANA PAULA CHAGAS SOUSA

**CONSUMO ELEVADO DE CARBOIDRATOS DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO E IMPACTOS RENAIIS E METABÓLICOS PARA A PROLE DE
RATAS *WISTAR*.**

UBERLÂNDIA

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE BIOMEDICINA

ANA PAULA CHAGAS SOUSA

**CONSUMO ELEVADO DE CARBOIDRATOS DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO E IMPACTOS RENAIIS E METABÓLICOS PARA A PROLE DE
RATAS *WISTAR*.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado pela discente Ana Paula Chagas Sousa como requisito para obtenção de Bacharel em Biomedicina, pelo curso de Biomedicina na Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador(a): Prof. Dra. Ana Paula Coelho Balbi.

UBERLÂNDIA

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE BIOMEDICINA

ANA PAULA CHAGAS SOUSA

**CONSUMO ELEVADO DE CARBOIDRATOS DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO E IMPACTOS RENAIIS E METABÓLICOS PARA A PROLE DE
RATAS *Wistar*.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado pela discente Ana Paula Chagas Sousa como requisito para obtenção de Bacharel em Biomedicina, pelo curso de Biomedicina na Universidade Federal de Uberlândia.

Banca Examinadora:

Dra. Ana Paula Coelho Balbi – Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM - UFU)

Dra. Érika Renata Barbosa Neiro – Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM - UFU)

Dra. Simone Ramos Deconte – Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM - UFU)

UBERLÂNDIA

2020

AGRADECIMENTOS

Gostaria de dedicar este trabalho aos meus pais, Carla e Weliton, que sempre me apoiaram nos estudos e me fizeram acreditar que sou capaz de realizar meus sonhos, sou infinitamente grata por tudo que fazem por mim.

Agradeço à minha orientadora Ana Paula, foi quem me despertou um grande interesse pela fisiologia e me fez deslumbrar com o funcionamento do corpo humano por sempre ministrar as aulas com muito amor e conhecimento.

Às minhas amigas de laboratório Ianca e Fernanda por toda ajuda na realização do projeto e por todo apoio.

À minha prima Bárbara, meu namorado Jeobert e minha amiga Midyelli que sempre me apoiaram e fizeram parte da realização desse sonho.

Aos meus avós Simone e Tarcísio, meus tios Vanessa, Debora, Marley e Euler e em memória a minha avó Rosina e meu tio Vinicius por sempre torcerem por mim e pelos conselhos que fizeram parte do meu desenvolvimento pessoal.

A Deus por ser parte da minha vida me proporcionando saúde e disposição e a todos os amigos, familiares e outros que de forma direta ou indireta torceram por mim nessa jornada.

RESUMO

A nutrição materna saudável, antes e durante a gestação e amamentação, é crucial para o desenvolvimento adequado da progênie, uma vez que excesso de gorduras e de carboidratos ou mesmo a restrição proteica podem alterar o ambiente intrauterino e programarem doenças na vida adulta da prole, como diabetes mellitus tipo 2, obesidade, doenças cardiovasculares, entre outras. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi identificar os impactos renais e metabólicos para a prole, de diferentes idades, de ratas *Wistar* tratadas com frutose (20%) ou sacarose (20%) durante a gestação e lactação. Uma vez grávidas, as mães e seus filhotes fêmeas de 1, 7 e 90 dias foram divididos nos seguintes grupos: 1) Grupo Controle: mães que ingeriram água e ração comercial; 2) Grupos Frutose: mães que ingeriram solução de frutose 20% e ração comercial, e 3) Grupo Sacarose: mães que ingeriram solução de sacarose 20% e ração comercial. Foram coletados rins, fígado e coração dos filhotes fêmeas, mas as de 90 dias foram submetidas às avaliações renais e metabólicas, antes da coleta de órgãos. As mães dos grupos experimentais ingeriram menos ração e mais líquidos na gestação que as controles, além das mães do grupo Sacarose terem apresentado aumento de triglicérides (TG) plasmáticos e maior peso corporal na lactação. Já os filhotes, não foram diferentes para o peso corporal e pesos relativos dos órgãos coletados, mas na vida adulta, a glicemia de jejum foi maior nos grupos experimentais, além do grupo Sacarose ter apresentado aumento de TG em relação aos demais, enquanto no grupo Frutose foi observada perda de função renal, quando comparado aos controles de mesma idade. A dieta rica em carboidratos, por si só, foi capaz de provocar alterações renais e metabólicas importantes na prole, mas carboidratos diferentes interferem no tipo e magnitude dessas alterações.

Palavras-chave: Programação Fetal; Prole; Função Renal; Frutose; Sacarose.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. JUSTIFICATIVA	10
3. OBJETIVOS	11
3.1 Objetivo Geral	11
3.2 Objetivos Específicos.....	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1 Animais	12
4.2 Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG).....	13
4.3 Determinação de colesterol total (CT) e de triglicerídeos (TG) plasmáticos.....	13
4.4 Avaliação da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) e Excreção Urinária de Proteínas (EUP)	13
4.5 Delineamento experimental.....	14
4.6 Análise Estatística.....	14
5. RESULTADOS	15
5.1 Dados Maternos.....	15
5.1.1 Consumo diário de ração e consumo de líquido.....	15
5.1.2 Glicemia materna e variação do peso materno.....	16
5.1.3 Colesterol Total e Triglicerídeos materno.....	17
5.2 Dados da prole.....	18
5.2.1 Peso corporal da prole e relação peso do rim; fígado; coração/peso do corpo (ou peso relativo)	18
5.3 Dados metabólicos e funcionais dos filhotes de 90 dias.....	20
5.3.2 Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG).....	20
5.3.2 Colesterol Total (CT) e Triglicerídeos (TG).....	20
5.3.3 Creatinina Plasmática e Taxa de Filtração Glomerular (TFG)....	21
5.3.3 Excreção Urinária de Proteínas (EUP).....	21
6.DISCUSSÃO	24
7.CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30
ANEXO I	34

1. INTRODUÇÃO

Cerca de 180 litros de plasma são filtrados diariamente pelos rins e apenas 1 a 2 litros são eliminados pela urina (AIRES, 2008). Além desta função, os rins regulam o volume e os componentes dos líquidos extracelulares, participam da manutenção da pressão arterial e do equilíbrio ácido base corporal, produzem hormônios, excretam produtos do metabolismo endógeno e reabsorvem substâncias importantes (GUYTON, 2008). O rim de mamíferos é derivado de três estruturas fetais de acordo com a seguinte ordem de desenvolvimento: pronefro (não funcional) que se forma no início da quarta semana de gestação em humanos, mesonefro (temporário) que se degenera no final do terceiro trimestre e o metanefro, originado no início da quinta semana, que resultará nos rins permanentes, a partir da interação mútua entre o blastema nefrogênico e o broto ureteral, que é o primórdio do ureter, da pelve renal, dos cálices e dos túbulos coletores (MOORE, 2012).

Enquanto em humanos todo o processo de desenvolvimento renal acontece no período de vida intrauterino e a duração da gestação é de 40 semanas, em roedores, a gestação tem duração de 21 dias e os rins começam a se desenvolver por volta do 11º/12º dia de vida embrionária e este processo só se completa no período pós-natal (AMRI *et al*, 1999).

Durante a gestação, a demanda de nutrientes maternos encontra-se aumentada devido a maior necessidade de energia, entretanto, o equilíbrio entre a ingestão e as recomendações nutricionais é fundamental, pois tanto o excesso quanto a falta de nutrientes nesta fase podem ser prejudiciais ao feto (MARANGONI *et al*, 2016) e estão relacionados com a deficiência no crescimento fetal, na propensão às doenças crônicas como diabetes tipo 2, hipertensão entre outras (YAYA *et al*, 2018). Neste contexto, define-se o conceito de programação fetal, em 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, resultando em distúrbios na vida adulta da prole, uma vez que o desenvolvimento embrionário e fetal consiste em períodos críticos de rápida diferenciação celular, crescimento, desenvolvimento e maturação de órgãos (DRAKE & WALKER, 2004; GUILLOTEAU *et al*, 2010; SARI *et al*, 2015),

Uma nutrição inadequada em proteínas, por exemplo, nos períodos pré e pós-natal pode causar danos no córtex renal da prole, ou seja, tanto uma dieta materna com sobrecarga quanto uma dieta com deficiência proteica podem gerar filhotes com sobrepeso ou desnutridos que, independentemente da situação, podem estar predispostos a desenvolverem insuficiência renal

e hipertensão, devido ao comprometimento da nefrogênese (PEDROZA *et al*, 2018). Outro estudo demonstrou que os filhotes machos e fêmeas de ratas *Wistar*, expostos a dieta rica em gordura, durante a gestação e lactação, podem apresentar predisposição ao desenvolvimento de obesidade independentemente da nutrição pós-natal (NEGRÃO; LICINIO, 2000). Além disso, foi observado que distúrbios endócrinos na gestação, além de dietas alteradas, também podem programar doenças na prole. Rezende e colaboradores (2020) mostraram que filhotes machos jovens de mães hipotireoideas tiveram comprometimento do desenvolvimento gástrico e intestinal, alterações estruturais que podem repercutir no funcionamento desses órgãos na vida adulta.

Os açúcares ou carboidratos são compostos formados por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e são classificados em 3 grupos: monossacarídeos (glicose, galactose e frutose), dissacarídeos ou oligossacarídeos (lactose, sacarose, maltose) e polissacarídeos (amido, glicogênio). Outra classificação pode ser feita quanto à origem dos açúcares, os naturalmente encontrados nos alimentos, como a frutose presente nas frutas e a lactose presente no leite, e aqueles extraídos de cana de açúcar, beterraba e milho para posterior uso na elaboração de alimentos processados, sendo esses últimos chamados de “açúcares de adição” (LEVY *et al*, 2012). O limite máximo de consumo de açúcares de adição recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) é de 10% do total de calorias da dieta (LEVY *et al*, 2012), nos EUA, 58% de homens e mulheres com idade entre 19 e 30 anos e 63% de homens e mulheres entre 31 e 50 anos consomem entre 5 e 20% de suas calorias diárias na forma de açúcares de adição, sendo a média em torno de 15% (MARRIOT *et al*, 2010). Já no Brasil, o consumo excessivo de açúcares de adição nos domicílios urbanos e rurais de todas as regiões ultrapassa em mais de 60% o limite máximo de consumo recomendado pela OMS (LEVY *et al*, 2012), atualmente esse consumo pode ser ainda maior.

Os açúcares mais consumidos no mundo são a sacarose (açúcar branco ou de mesa), glicose e xarope de milho rico em frutose (KISIOGLU; NERGIZ-UNAL, 2018). O consumo mundial de frutose aumentou principalmente na forma refinada ou processada sendo este, um dos açúcares naturais mais doces, estando presente em diversas bebidas e alimentos industrializados (DOUARD; FERRARIS, 2008). Há evidências da relação entre o maior consumo de frutose e glicose e o risco aumentado de obesidade e diabetes tipo 2 (MONTONEN, 2007).

Um estudo com ratos da linhagem *Wistar* mostrou que a dieta materna com sacarose ou com xarope de milho rico em frutose foi capaz de influenciar diretamente na saúde das mães,

pois o consumo materno do primeiro provocou maior adiposidade e níveis plasmáticos elevados de colesterol total, enquanto que a frutose aumentou a insulina e reduziu ácidos graxos não-esterificados. Esses efeitos maternos podem gerar consequências na vida adulta da prole (TOOP et al, 2015), segundo os estudos de programação fetal. Alzamendi e colaboradores (2010) relataram que filhotes de ratas *Sprague-Dawley*, que consumiram uma dieta rica em frutose na gestação e lactação, desenvolveram obesidade na idade adulta, aumento do peso corporal, de insulina, do transporte de ácidos graxos para o músculo esquelético e desenvolvimento de desordens cardiovasculares e metabólicas. Posteriormente, HSU e colaboradores (2016) verificaram que uma dieta com 60% de frutose no período gestacional e lactacional ocasionou hipertensão na prole de 12 semanas, independentemente do sexo. Além disso, um trabalho experimental mais recente demonstrou que a ingestão materna de solução de frutose 20%, durante a gestação e lactação, foi responsável por aumentar os níveis de corticosterona circulantes na prole, decorrentes da redução na metabolização e clearance desse hormônio, que em concentrações elevadas no decorrer da vida podem gerar danos como hipertensão e resistência à insulina na progênie (MUNETSUNA et al, 2019).

2. JUSTIFICATIVA

Considerando:

1) que houve uma mudança importante nos hábitos alimentares da população nos últimos tempos, com aumento significativo no consumo de alimentos e bebidas ricos em açúcares de adição, e evidências de que a ingestão aumentada de carboidratos, também durante a gestação e lactação, podem resultar em efeitos deletérios para a prole;

2) que filhotes de 16 semanas de ratas *Sprague-Dawley* expostas à frutose antes, durante e após a gestação, apresentaram glomeruloesclerose, redução de podocina (importante constituinte da barreira de filtração) e aumentada expressão de *Transforming-Growth Factor-1* (TGF- β 1) renal, (YAMADA-OBARA *et al*, 2016);

3) Se somente o consumo excessivo de açúcares na gestação e lactação é capaz de programar alterações na prole ou se o tipo de carboidrato influencia nesse processo, estudos que façam essa comparação e avaliem as repercussões renais da ingestão glicídica materna aumentada para a progênie são extremamente necessários.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos metabólicos e renais do consumo elevado de diferentes carboidratos (frutose ou sacarose), durante a gestação e lactação, de ratas *Wistar*, bem como avaliar possíveis alterações renais da prole.

3.2 Objetivos Específicos

- 1) Avaliar os efeitos maternos do consumo aumentado dos carboidratos (frutose e sacarose) durante a gestação e lactação para o perfil lipídico, peso corporal, glicemia e consumo de ração e de líquidos;
- 2) Analisar as consequências do consumo materno aumentado dos carboidratos (frutose e sacarose), durante a gestação e lactação de ratas *Wistar* no peso corporal e nos pesos relativos renal, hepático e cardíaco dos filhotes de 1, 7 e 90 dias de idade; nos níveis plasmáticos de colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG), Taxa de Filtração Glomerular (TFG), Excreção Urinária de Proteínas (EUP) e Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) dos filhotes de 90 dias de idade; e,
- 3) Comparar se as repercussões para a prole são diferentes dependendo do tipo de carboidrato (frutose ou sacarose) ingerido pelas mães.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Todos os experimentos relatados neste trabalho foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFU (Protocolo CEUA 015/19) (ANEXO 1).

Foram utilizadas 27 fêmeas de ratos Wistar de aproximadamente 180g e 5 machos Wistar de aproximadamente 350g, separados em caixas por sexo, com água e ração *ad libitum*, para acasalamento (2 a 3 fêmeas para cada macho). Uma possível gravidez foi constatada pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal. Uma vez grávidas, as mães e seus filhotes fêmeas foram divididos nos seguintes grupos:

Grupo 1 (Controle com dieta comercial): filhotes de 1, 7 e 90 dias de idade de mães que receberam dieta comercial e água *ad libitum* durante a gestação e amamentação;

Grupo 2 (Frutose: Dieta Comercial + solução de frutose 20%): filhotes de 1, 7 e 90 dias de idade de mães que receberam dieta comercial + solução de frutose 20% (frutose diluída em água), em substituição à água, durante a gestação e amamentação.

Grupo 3 (Sacarose: Dieta Comercial + solução de sacarose 20%): filhotes de 1, 7 e 90 dias de idade de mães que receberam dieta comercial + solução de sacarose 20% (sacarose diluída em água), em substituição à água, durante a gestação e amamentação.

As ratas grávidas tiveram a variação de peso corporal verificada a cada 5 dias, durante toda a gestação e lactação, assim como foram analisados os consumos de líquidos e ração por 5 dias consecutivos somente na gestação, essas mães também foram submetidas à coleta de sangue, por ordenhamento de cauda, para verificação de glicemia e perfil lipídico aos 20 dias de gestação e de lactação. As filhotes fêmeas de 1, 7 e 90 dias de idade foram anestesiadas com halotano e tiveram seus rins, coração e fígado retirados para determinação do peso relativo desses órgãos e para as análises renais morfométrica (áreas dos corpúsculos renais, dos tufos glomerulares e do espaço capsular), de colágeno cortical e imuno-histoquímica (para avaliação da presença ou não de lesão renal) e análises morfológicas hepáticas e cardíacas, embora essas análises não tenham sido apresentadas neste trabalho. No entanto, as filhotes fêmeas de 90 dias foram submetidas às análises de Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG), Taxa de Filtração Glomerular (TFG) e Excreção Urinária de Proteína (EUP) antes de serem anestesiadas e terem seus órgãos coletados.

4.2 Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG)

Após um período de jejum de 6 horas, uma gota de sangue foi retirada da veia caudal dos filhotes fêmeas de 90 dias. Em seguida, os animais receberam uma solução de glicose 20% via gavagem (tempo 0). A glicemia foi registrada com o auxílio de um glicosímetro nos tempos 0 (antes da administração da solução de glicose), 30, 60 e 120 minutos após a gavagem (adaptado de CORREIA-SANTOS et al., 2012).

4.3 Determinação de Colesterol Total (CT) e Triglicerídeos Plasmáticos (TG)

Os níveis séricos de CT e de TG foram determinados por método enzimático-Trinder colorimétrico (Labtest) e avaliados nos filhotes fêmeas de 90 dias. A intensidade da cor vermelha formada na reação final era diretamente proporcional à concentração do CT e TG na amostra.

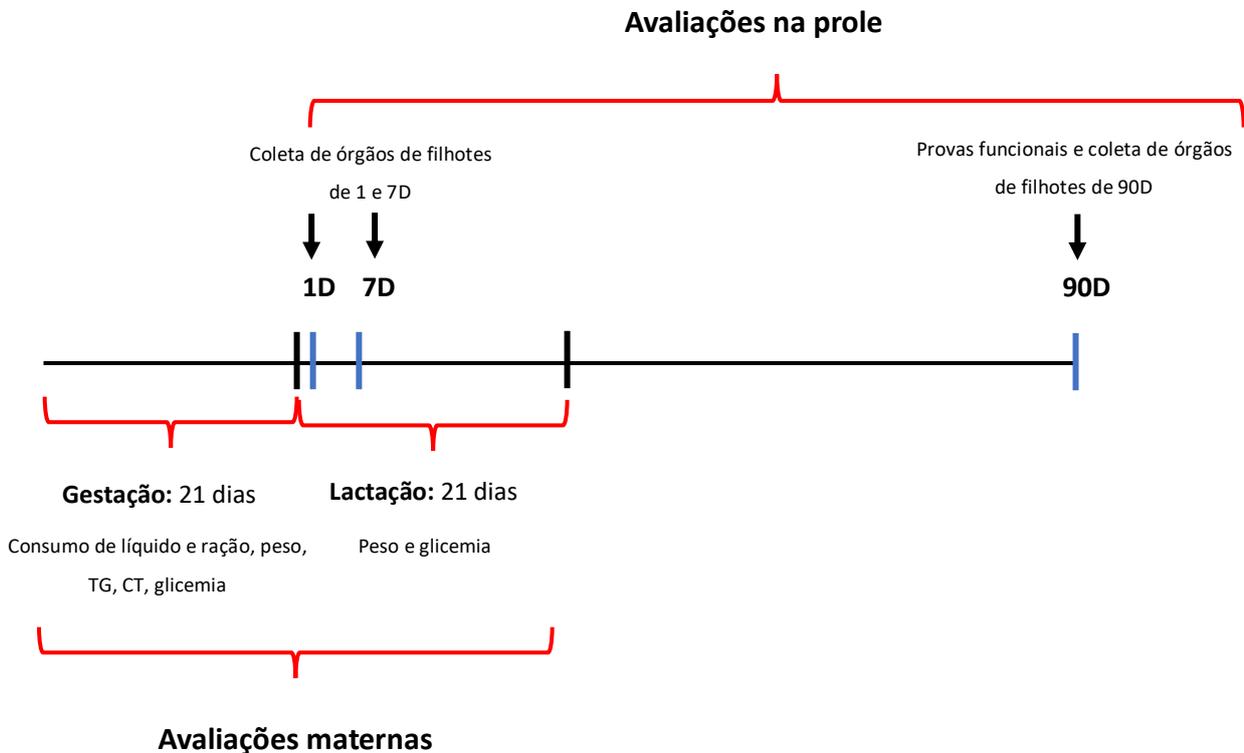
4.4 Avaliação da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) e Excreção Urinária de Proteína (EUP)

A TFG e EUP foram avaliadas nos filhotes fêmeas de 90 dias por colorimetria (Labtest). Para isso, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas e toda a urina de 24 horas foi devidamente coletada; posteriormente, uma amostra de sangue foi retirada da cauda dos animais. A TFG foi avaliada pelo clearance de creatinina, para o qual foram dosadas a creatinina plasmática e urinária e determinado o volume urinário. Já para EUP, a absorvância registrada era diretamente proporcional à quantidade de proteína na amostra de urina.



Fonte: Área de Ciências Fisiológicas (ARFIS).

4.5 Delineamento experimental



4.6 Análise estatística

Primeiramente, os dados foram analisados no software *GraphPad Prism Version 5.00 (Trial)* quanto a presença ou não de distribuição normal, pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando apresentaram distribuição normal, foi utilizado teste paramétrico ANOVA com pós teste de Tukey ou two-way ANOVA com pós teste de Bonferroni, caso não apresentassem distribuição normal, foi usado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 Dados maternos

5.1.1 Consumo diário de ração e consumo de líquido

Foram avaliados os consumos médios alimentar e de líquidos maternos por dia, durante cinco dias consecutivos da segunda semana de gestação, e pode-se perceber que as mães do grupo Sacarose consumiram mais líquidos que o grupo Controle nos 2° e 5° dias de avaliação, enquanto no grupo Frutose houve apenas uma tendência de aumento nos mesmos dias (Figura 1). Quanto ao consumo alimentar, as mães dos grupos experimentais ingeriram menos ração que as do grupo Controle, na maior parte do período, sendo o consumo do grupo Sacarose menor nos 2°, 3°, 4° e 5° dias, enquanto que o do grupo Frutose, nos 3°, 4° e 5° dias de análise (Figura 2), muito provavelmente pelo aumento da disponibilidade calórica contida nos líquidos ingeridos pelas mães desses grupos.

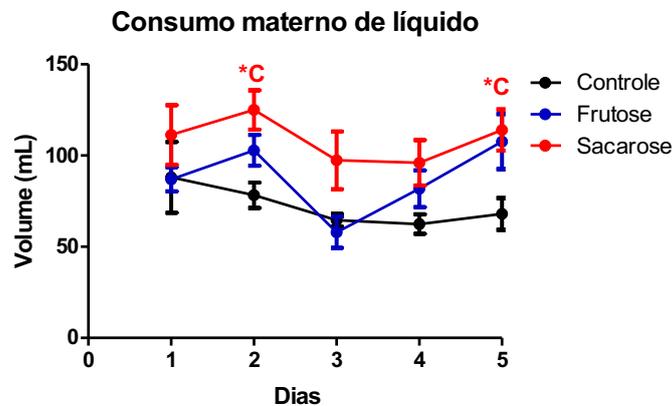


Figura 1. Consumo materno diário de líquido medido em mililitros (ml) por dia dos grupos Controle (n=9), Frutose (n=10) e Sacarose (n=8). Two-way ANOVA com pós-teste de Bonferroni. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus Controle.

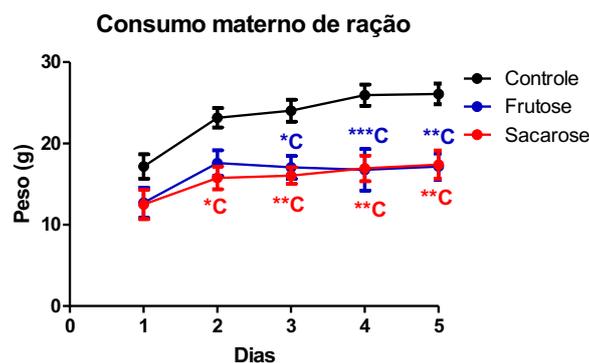


Figura 2. Consumo materno diário de ração medido em gramas (g) por dia dos grupos Controle (n=9), Frutose (n=10) e Sacarose (n=8). Two-way ANOVA com pós-teste de Bonferroni. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. ***C: $p < 0,001$ versus Controle; **C: $p < 0,01$ versus Controle; *C: $p < 0,05$ versus Controle.

5.1.2 Glicemia materna e variação do peso materno

A glicemia materna não foi diferente entre os grupos estudados no 20º dia de gestação e nem no 20º dia de lactação (Figura 3), mas as mães dos grupos experimentais mostraram uma tendência de peso reduzido na lactação. No entanto, essa diferença só foi significativa entre o grupo Sacarose e Controle nos 30º e 35º dias de avaliação, ou seja, nos 10º e 15º dias de lactação, uma vez que esse parâmetro foi avaliado a cada cinco dias, durante toda a gestação e lactação (Figura 4).

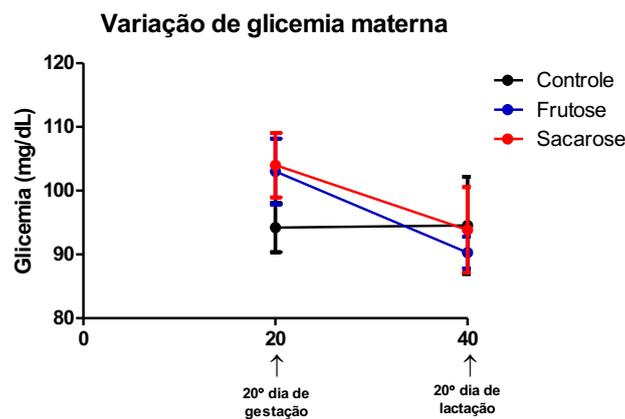


Figura 3. Glicemia materna no 20º dia de gestação e lactação em mg/dL dos grupos Controle (n=9), Frutose (n=10) e Sacarose (n=8). Two-way ANOVA com pós-teste de Bonferroni. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

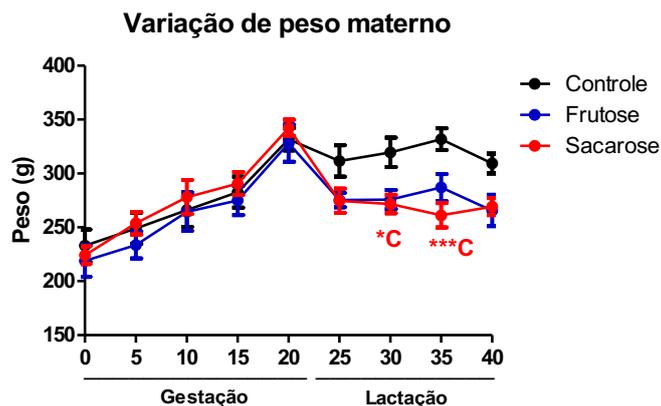


Figura 4. Variação do peso corporal materno em gramas (g) durante a gestação e lactação dos grupos Controle (n=9), Frutose (n=10) e Sacarose (n=8). Two-way ANOVA com pós-teste de Bonferroni. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. ***C: $p < 0,001$ versus Controle; *C: $p < 0,05$ versus Controle.

5.1.3 CT e TG maternos

O perfil lipídico materno também foi avaliado na gestação e, embora os níveis de CT não tenham sido diferentes entre os grupos (Figura 5), os níveis plasmáticos de TG foram maiores no grupo Frutose em comparação aos de Sacarose e, em ambos, maiores quando comparados aos controles (Figura 6).

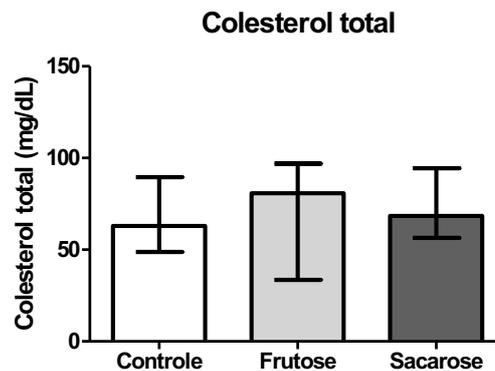


Figura 5. Colesterol total das mães em mg/dL dos grupos Controle (n=9), Frutose (n=10) e Sacarose (n=8). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os valores representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

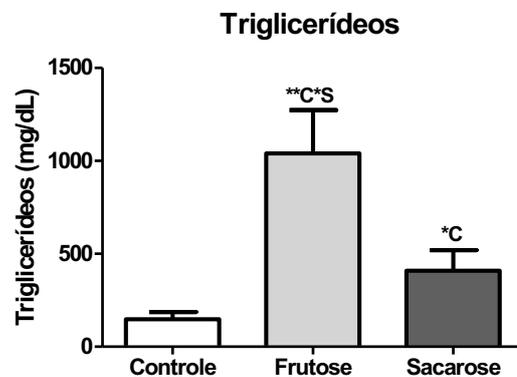


Figura 6. Triglicerídeos das mães em mg/dL dos grupos Controle (n=9), Frutose (n=10) e Sacarose (n=8). ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. **C: $p < 0,01$ versus Controle; *C: $p < 0,05$ versus Controle; *S: $p < 0,01$ versus Sacarose.

5.2 Dados da prole

5.2.1 Peso corporal da prole e relação peso do rim; fígado; coração/peso do corpo (ou peso relativo)

O peso corporal da prole aumentou ao longo do tempo, de forma que os filhotes de 90 dias apresentam peso maior que os de 1 e 7 dias (Figura 7), conforme esperado. Já o peso relativo cardíaco é menor nos filhotes de 90 dias, em relação aos de 1 e 7 dias (Figura 8), assim como o peso relativo renal (Figura 9), quando comparado aos animais de 7 dias, demonstrando que a taxa de desenvolvimento e crescimento do coração e rins é maior que o crescimento corporal nos primeiros dias de vida. Já o peso relativo hepático é praticamente constante ao longo de todo o período estudado para os 3 grupos (Figura 10). Apesar das diferenças por conta da idade analisada, não houve diferenças entre os grupos para esses parâmetros.

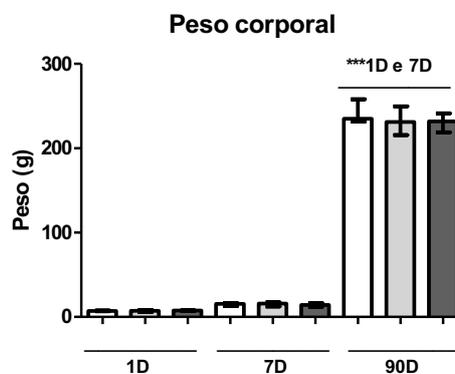


Figura 7. Peso dos filhotes de 1, 7 e 90 dias de idade em gramas (g) dos grupos Controle (1D=7, 7D= 7, e 90D=11), Frutose (1D=8, 7D= 8 e 90D=13) e Sacarose (1D=7, 7D= 9 e 90D=14). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os valores representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. ***1D e 7D: $p < 0,001$ versus animais de 1 e 7 dias.

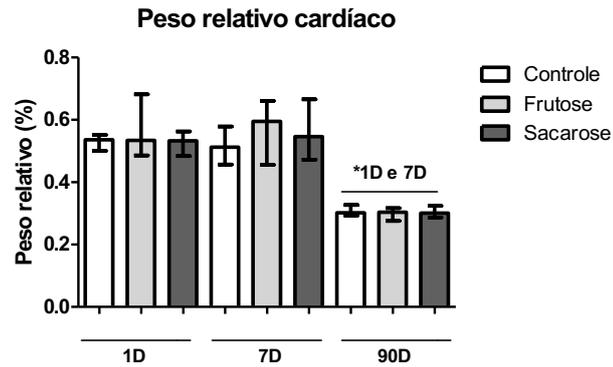


Figura 8. Peso relativo cardíaco dos filhotes de 1,7 e 90 de idade em gramas (g) dos grupos Controle (1D=7, 7D=7, e 90D=11), Frutose (1D=8, 7D=8 e 90D=13) e Sacarose (1D=7, 7D=9 e 90D=14). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os valores representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *1D e 7D: $p < 0,05$ versus animais de 1 e 7 dias.

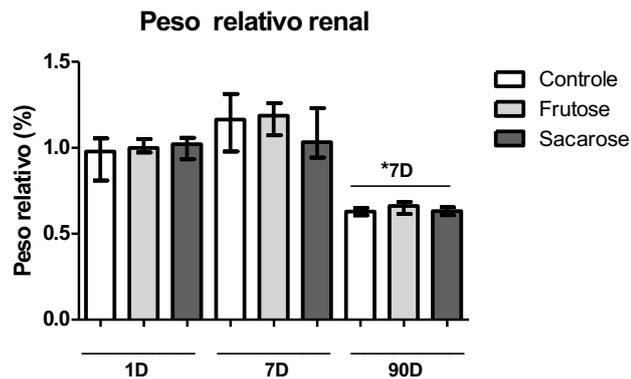


Figura 9. Peso relativo renal dos filhotes de 1,7 e 90 de idade em gramas (g) dos grupos Controle (1D=7, 7D=7, e 90D=11), Frutose (1D=8, 7D=8 e 90D=13) e Sacarose (1D=7, 7D=9 e 90D=14). Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os valores representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$; *7D: $p < 0,05$ versus animais de 7 dias.

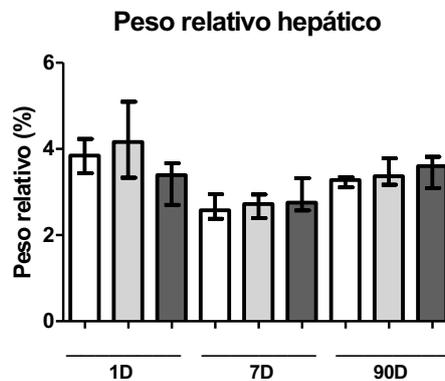


Figura 10. Peso relativo hepático dos filhotes de 1,7 e 90 de idade em gramas (g) dos grupos Controle (1D=7, 7D= 7, e 90D=11), Frutose (1D=8, 7D= 8 e 90D=13) e Sacarose (1D=7, 7D= 9 e 90D=14). Kruskall-Wallis com pós-teste de Dunn. Os valores representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$.

5.3 Dados metabólicos e funcionais dos filhotes de 90 dias

5.3.2 TOTG

A partir do TOTG, observou-se que os filhotes de 90 dias dos grupos Frutose e Sacarose apresentaram maior glicemia de jejum que os controles, mas não foram diferentes entre si, além da glicemia nos animais desses grupos ter diminuído após a administração de glicose, comportamento diferente do apresentado pelo grupo controle (Figura 11).

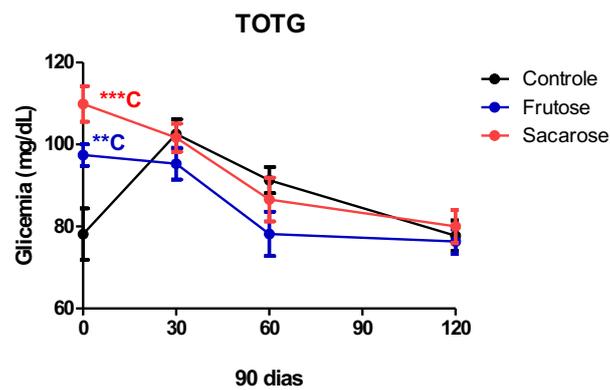


Figura 11. Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG) dos filhotes de 90 dias em mg/dL dos grupos Controle (n=8), Frutose (n=10), Sacarose (n=9) Two-way ANOVA com pós-teste de Bonferroni. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. ***C: $p<0,001$ versus Controle **C: $p<0,01$ versus Controle.

5.3.2 CT e TG

Quanto ao perfil lipídico, não houve diferenças entre os grupos para o CT (Figura 12), mas os níveis plasmáticos de TG foram maiores nos filhotes de 90 dias do grupo Sacarose, quando comparado aos controles (Figura 13).

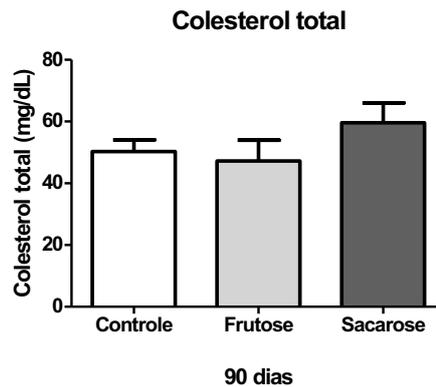


Figura 12. Colesterol total dos filhotes de 90 dias de idade em mg/dL dos grupos Controle (n=8), Frutose (n=10), Sacarose (n=10) ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

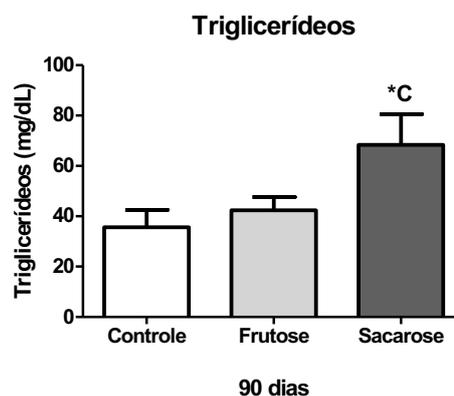


Figura 13. Triglicerídeos dos filhotes de 90 dias de idade em mg/dL dos grupos Controle (n=10), Frutose (n=12), Sacarose (n=13) ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus Controle.

5.3.3 Creatinina plasmática, Taxa de Filtração Glomerular (TFG) e Excreção Urinária de Proteína (EUP)

A creatinina plasmática também não foi diferente entre os grupos, embora uma tendência ao aumento possa ser percebida no grupo Frutose (Figura 14), o que indicaria uma possível perda de função renal. De fato, o grupo Frutose apresentou menor TFG que o grupo Controle, parâmetro que foi avaliado pelo clearance de creatinina, vale ressaltar que o grupo Sacarose apresentou tendência à redução da TFG (Figura 15). No entanto, a EUP não foi diferente entre os grupos (Figura 16).

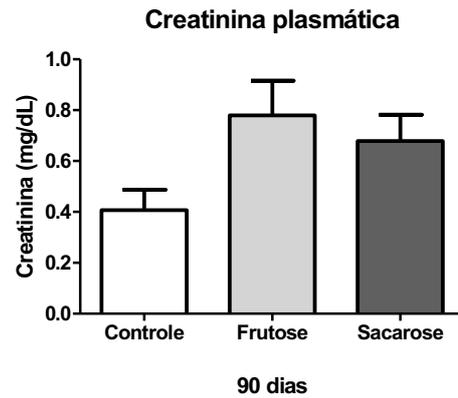


Figura 14. Creatinina plasmática dos filhotes de 90 dias de idade em mg/dL dos grupos Controle (n=9), Frutose (n=12), Sacarose (n=13) ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

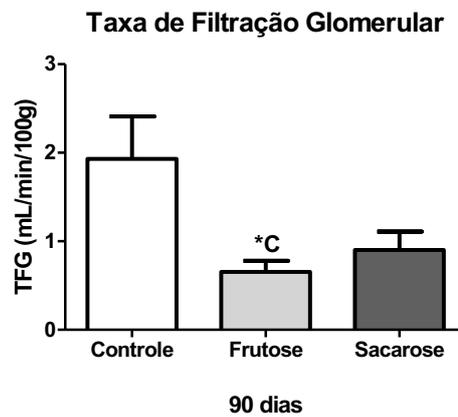


Figura 15. Taxa de Filtração Glomerular (TFG) dos filhotes de 90 dias de idade em mL/min/100g dos grupos Controle (n=9), Frutose (n=12) e Sacarose (n=11) ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus Controle.

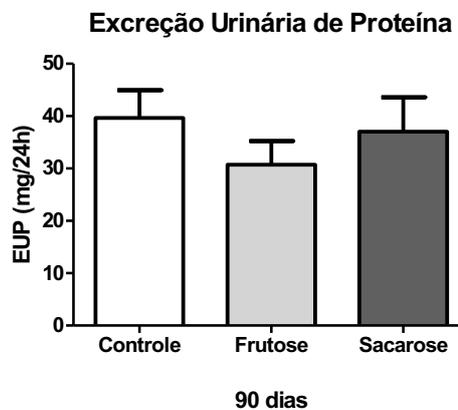


Figura 16. Excreção Urinária de Proteína (EUP) dos filhotes de 90 dias de idade em mg/24h dos grupos Controle (n=10), Frutose (n=12), Sacarose (n=12) ANOVA com pós-teste de Tukey. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6. DISCUSSÃO

Segundo Langley-Evans (2015), mudanças na nutrição materna podem alterar o ambiente intrauterino e assim gerarem adaptações fisiológicas e metabólicas na prole uma vez que, durante o desenvolvimento as células e tecidos possuem alta plasticidade para responder ao ambiente e garantir sua sobrevivência (programação fetal). Essa remodelação sofrida pelas células e tecidos podem influenciar no risco de doenças futuras. Neste trabalho, ratas *Wistar* foram tratadas na gestação e lactação com uma dieta rica em carboidratos (Sacarose ou Frutose), afim de se criar um ambiente adverso para os filhotes e assim estudar suas repercussões.

Em relação as mães, notou-se que os grupos expostos a dietas ricas em carboidratos consumiram menos ração e mais líquidos, quando comparados ao controle, muito provavelmente por conta do aumento da ingestão calórica via líquidos ingeridos, o que resultou em uma diminuição compensatória na ingestão alimentar. Apesar disso, não houve diferença de peso corporal materno durante a gestação entre os grupos estudados, embora haja uma tendência à redução desse parâmetro durante a lactação, mas essa diferença só foi significativa no grupo Sacarose em comparação às controles no 10º e 15º dias de lactação. Um estudo com ratas *Wistar* divididas em 3 grupos: 1) grupo controle; 2) tratadas com sacarose (dissacarídeo de glicose e frutose) e 3) com xarope de milho com alto teor de frutose (55% de frutose) por 4 semanas, antes do acasalamento e durante toda a gestação e lactação, também mostrou menor consumo de ração pelos grupos hipercalóricos em relação ao controle e ausência de diferença significativa no peso corporal materno (TOOP *et al*, 2015). O peso corporal possivelmente não foi alterado nos grupos hipercalóricos, neste estudo e no de TOOP e colaboradores, possivelmente pelo fato da maior ingestão de líquido ter sido compensada pela redução na ingestão de ração, de forma que o consumo calórico total não tenha sofrido grandes alterações.

Quanto a glicemia e os níveis de CT maternos não houve diferenças significativas entre os grupos. De acordo com TOOP e colaboradores (2015), no estudo citado no parágrafo citado acima, a concentração de glicose plasmática também não foi diferente, mas houve aumento de CT e colesterol LDL no grupo Sacarose, em relação aos outros. É possível que essa divergência de dados possa ser explicada pelo tempo em que as mães tiveram acesso a dieta, até a verificação desses parâmetros.

Apesar dos resultados encontrados para o CT e embora a dosagem das frações de colesterol não tenha sido feita neste trabalho, os níveis de TG maternos foram maiores no grupo Frutose, quando comparado aos grupos Controle e Sacarose, mostrando que a frutose causou uma maior alteração do perfil lipídico materno. De acordo com Rodríguez e colaboradores (2013), ratas grávidas alimentadas com frutose (10%) na gestação e lactação se apresentaram hipertrigliceridêmicas, em comparação às controles. Um estudo com ratas da linhagem *Sprague-Dawley*, alimentadas com uma dieta hipercalórica antes e durante a gestação e lactação, totalizando 20 semanas com a dieta, relatou aumento de TG plasmáticos em grupos tratados com frutose 100% (livre), frutose 55% (livre) e sacarose 20% (frutose ligada) (YURUK; NERGIZ-UNAL, 2017), mas vale ressaltar que as concentrações de frutose e o tempo de exposição a dieta são diferentes do presente trabalho, sendo um possível indicativo que o tempo de exposição e a concentração de carboidratos interferem nos distúrbios metabólicos maternos. Foi verificado também que ratos machos *Sprague-Dawley*, alimentados por 1 semana com frutose 33% ou glicose 66% apresentaram os mesmos níveis de TG plasmáticos, porém um outro grupo alimentado com frutose 66% mostrou aumento de TG e de VLDL, sugerindo hipertrigliceridemia induzida por frutose e que machos tratados com frutose mais concentrada e por menos tempo, responde mais com aumento de TG do que fêmeas (ZAVARONI *et al*, 1982). Em uma revisão, Toop & Gentili (2016) sugerem que o consumo de bebidas adoçadas em concentrações de 10% (p/v) estão relacionadas com aumento de TG no sangue, de forma que mesmo o consumo com baixa concentração de açúcares, possa induzir sinais de síndrome metabólica em roedores.

Em relação aos filhotes fêmeas de diferentes idades, não houve diferença significativa nos pesos corporais entre os grupos, assim como foi observado para filhotes machos e fêmeas de 12 semanas de idade, de ratas *Wistar*, expostas a uma dieta materna pré e pós natal com sacarose ou frutose a 10% (p/v) (TOOP *et al*, 2017). Entretanto, YURUK; NERGIZ-UNAL (2017) observaram aumento de peso em filhotes de 3 semanas de ratas *Sprague-Dawley*, tratadas com dieta 1) frutose 55%; 2) frutose 100% livre e 3) sacarose (50% frutose ligada) por 12 semanas antes do acasalamento e mantidas na gestação. Essa divergência entre as pesquisas pode ocorrer devido as diferenças dos tipos de carboidratos administrados, concentração, tempo de exposição, consumo e idade em que os filhotes foram avaliados.

Assim como o peso corporal da prole, não houve diferenças significativas entre os grupos para os pesos relativos cardíaco, hepático e renal dos filhotes de 1, 7 e 90 dias, dados que estão de acordo com TOOP e colaboradores (2017), que avaliaram filhotes de 3 e 12

semanas idade, de mães tratadas com frutose ou sacarose (10% p/v), por 4 semanas antes do acasalamento e durante toda a gestação e lactação, ou seja, o consumo materno de frutose ou sacarose não interfere no ritmo de crescimento/desenvolvimento corporal e desses órgãos, em específico, na prole.

Quanto as avaliações do perfil lipídico, os níveis de CT nos filhotes fêmeas de 90 dias de idade não foram diferentes entre os grupos propostos neste trabalho, embora não tenham sido analisadas suas frações (HDL, VLDL e LDL), como dito anteriormente. TOOP e colaboradores (2017) mostraram que filhotes fêmeas e machos de 12 semanas, de mães que consumiram frutose 55%, apresentaram HDL mais alto e LDL menor e, portanto, aumento na proporção HDL/LDL, em comparação aos animais controles, mas em contrapartida, filhotes de 3 semanas do mesmo grupo apresentaram diminuição do HDL e da razão HDL/LDL, sugerindo um perfil lipídico sanguíneo mais prejudicial em relação aos filhotes de 12 semanas (TOOP *et al*, 2017).

Já em relação aos TG plasmáticos, houve aumento nos filhotes fêmeas de 90 dias do grupo Sacarose, quando comparadas às controles. ZHANG e colaboradores (2018) relataram que filhotes machos expostos a mesma dieta consumida pelas mães (sacarose 20%), após o desmame, apresentaram nível plasmático de TG aumentado, possivelmente pela diminuição da depuração de lipoproteínas ricas em TG pelo fígado e aumento do conteúdo de glicogênio hepático. Em um outro estudo com ratos *Sprague–Dawley*, filhotes machos e fêmeas (21 dias de idade) de mães alimentadas com alto teor de gordura e sacarose, sendo que foi adicionado refrigerante (100% sacarose) e chocolate (33% gordura e 53% sacarose), além da água e ração padrão, apresentaram TG hepáticos aumentados e possível perda da função hepática de eliminar ácidos graxos pela oxidação e exportação de VLDL (KJAERGAARD *et al*, 2014).

Para avaliar a resposta glicêmica em filhotes de 90 dias, realizou-se o TOTG, onde observou-se que a glicemia em jejum dos grupos experimentais foi maior que a do grupo controle e, após a sobrecarga de glicose, a glicemia nesses grupos diminuiu, diferentemente do observado nos controles de mesma idade. Em filhotes machos (90 dias de idade) de ratas *Sprague–Dawley* que consumiram frutose 10% (p/v), apenas na gestação, observou-se indução de resistência à insulina, aumento de leptina e estresse oxidativo plasmático, mas não em fêmeas de 90 dias de idade. A prole masculina teve hiperleptinemia e aumento de insulina em jejum. Esse achado sugere resistência à insulina e resistência à leptina em ilhotas pancreáticas, uma vez que a insulina estimula a adipogênese e produção de leptina em adipócitos e a leptina inibe

a produção de insulina nas células β pancreáticas. Portanto, o eixo adipoinsular pode estar desregulado devido a elevação de leptina plasmática e a geração de deficiência na secreção de insulina (RODRÍGUEZ *et al*, 2015). Como neste trabalho a glicemia diminuiu após a sobrecarga de glicose, é possível que um aumento na produção e liberação de hormônios incretinas pelo trato gastrointestinal tenha sido programado pela dieta materna nos filhotes, mas essa hipótese ainda precisa ser investigada.

RAWANA e colaboradores (1993) relataram em seu estudo com filhotes de 21 dias de mães *Sprague-Dawley*, que consumiram frutose (10%) na gestação e lactação, tiveram uma concentração de insulina plasmática mais alta que o controle sugerindo hiperinsulinemia, devido ao quadro de resistência à insulina. Toop *et al.* (2017) relataram filhotes machos e fêmeas de 3 semanas e 12 semanas de mães alimentadas com frutose ou sacarose também não apresentaram diferenças no TOTG. É importante destacar que alterações na glicemia podem ocorrer ao nascimento e normalizarem ao longo do desenvolvimento da prole, de mães que foram expostas à solução de frutose 50% por 2 semanas antes do acasalamento, durante a gestação e lactação, como constatado por Jen e colaboradores (1991). Apesar das diferenças encontradas na literatura, é preciso levar em consideração, mais uma vez, fatores que influenciam nesses dados, como o tempo de exposição, tipo e concentração de carboidrato.

A TFG pode ser determinada pela depuração de determinadas substâncias, mas o ideal é que a substância escolhida seja livremente filtrada, a nível glomerular, e não seja reabsorvida e nem secretada nos túbulos renais. A que mais aproxima dessas condições, além de ser produzida pelo próprio organismo, é a creatinina, produto do metabolismo muscular. Sendo assim, foram dosadas as creatininas urinária e plasmática e determinado o fluxo urinário dos filhotes de 90 dias para se calcular a TFG (HUIDOBRO, TAGLE e GUZMÁN, 2018). A partir dessa avaliação, observou-se uma diminuição na TFG nos filhotes de 90 dias do grupo Frutose, quando comparados aos controles. No entanto, a EUP não foi diferente entre os grupos. FLYN e colaboradores (2012) estudaram filhotes fêmeas de 17 semanas de idade de ratas *Sprague-Dawley*, que receberam dieta rica em gordura (45% do valor total de energia 4,6 kcal / g) e água com frutose (10%), mantida aos filhotes mesmo após o desmame, durante mais 12 semanas. Os autores registraram que, apesar de não ocorrer alteração na TFG, houve aumento na excreção de albumina urinária maior que 200%, em relação aos outros grupos. Além disso, registraram uma diminuição da expressão de Nestina (integrante da barreira glomerular), que ocorreu independentemente da dieta pós desmame, o que gerou uma perda da integridade dos podócitos, comum em doenças proteinúricas. Como a ativação de vias inflamatórias pode estar ligada a

albuminúria e lesão glomerular, é provável que a lesão renal tenha sido causada por um processo inflamatório (FLYNN *et al*, 2012). No entanto, embora a coleta de rins tenha sido feita no presente trabalho, não foi possível realizar estudos de imunohistoquímica com marcadores de lesão renal até o momento.

7. CONCLUSÃO

Considerando-se os resultados apresentados, a dieta materna rica em carboidratos altera o perfil lipídico materno, mas enquanto a sacarose programa aumento de TG na prole adulta, a frutose causa comprometimento de função renal nos animais de mesma idade, ou seja, o excesso de carboidratos na gestação/lactação, por si só, é capaz de provocar alterações renais e metabólicas importantes na prole, mas carboidratos diferentes interferem no tipo e magnitude dessas alterações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, M.M. **Fisiologia**: 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

ALZAMENDI, Ana et al. Increased male offspring's risk of metabolic-neuroendocrine dysfunction and overweight after fructose-rich diet intake by the lactating mother. **Endocrinology**, v. 151, n. 9, p. 4214-4223, 2010.

AMRI, K. et al. Adverse effects of hyperglycemia on kidney development in rats: in vivo and in vitro studies. **Diabetes**, New York, v.48, p. 2240-2245, 1999.

BALBI, A.P.C. et al. MAPK and angiotensin II receptor in kidney of newborn rats from losartan-treated dams. **Pediatric Nephrol**, Berlin, v.23, p.1433-1444, 2008.

DE REZENDE, Livia Prometti et al. Effects of maternal hypothyroidism in the gastrointestinal system of male young offspring from Wistar rats. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, p. 1-7, 2020.

DOUARD, V.; FERRARIS, R. P. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. **Am J Physiol - Endocrinol and Metabol**, v. 295, n. 2, p. E227-E237, 2008.

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. **J Endocrinol**, v.180, p.1-16, 2004.

FLYNN, Elizabeth R. et al. High-fat/fructose feeding during prenatal and postnatal development in female rats increases susceptibility to renal and metabolic injury later in life. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, n. 4, p. R278-R285, 2013.

GUILLOTEAU, P. et al. Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man? **Nutr Res Rev**, v. 23, p. 4-22, 2010.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Fisiologia humana**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

HARDING, J. E. The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. **Int Epidemiol**, v. 30, n. 1, p. 15-23, 2001.

HAGERMAN, Dwain D. et al. The transport of fructose by human placenta. **The Journal of clinical investigation**, v. 31, n. 10, p. 911-913, 1952.

HSU, C-N. et al. Aliskiren administration during early postnatal life sex-specifically alleviates hypertension programmed by maternal high fructose consumption. **Frontiers in physiology**, v. 7, p. 299, 2016.

HUIDOBRO, E. JP; TAGLE, Rodrigo; GUZMÁN, A. M. Estimation of glomerular filtration rate with creatinine. **Revista medica de Chile**, v. 146, n. 3, p. 344-350, 2018.

JEN, KL Catherine et al. Fructose and sucrose feeding during pregnancy and lactation in rats changes maternal and pup fuel metabolism. **The Journal of nutrition**, v. 121, n. 12, p. 1999-2005, 1991

KISIOGLU, B.; NERGIZ-UNAL, R. Potential effect of maternal dietary sucrose or fructose syrup on CD36, leptin, and ghrelin-mediated fetal programming of obesity. **Nutr Neurosc**, p. 1-11, 2018.

KJAERGAARD, M. et al. Maternal chocolate and sucrose soft drink intake induces hepatic steatosis in rat offspring associated with altered lipid gene expression profile. **Acta Physiologica**, v. 210, n. 1, p. 142-153, 2014.

KLIEM, V. et al. Mechanism involved in the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats. **Kidney International**, New York, v.49, supplement, p.666-678,1996.

LANGLEY-EVANS, S. C. Nutrition in early life and the programming of adult disease: a review. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 28, p. 1-14, 2015.

LEVY, Renata Bertazzi et al. Disponibilidade de "açúcares de adição" no Brasil: distribuição, fontes alimentares e tendência temporal. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 15, p. 3-12, 2012.

MARANGONI, F. et al. Maternal diet and nutrient requirements in pregnancy and breastfeeding. **An Italian consensus document. Nutrients**, v. 8, n. 10, p. 629, 2016.

MARRIOTT, Bernadette P. et al. Intake of added sugars and selected nutrients in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003—2006. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 50, n. 3, p. 228-258, 2010.

MONTONEN, J. et al. Consumption of sweetened beverages and intakes of fructose and glucose predict type 2 diabetes occurrence. **The J Nutr**, v. 137, n. 6, p. 1447-1454, 2007.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N.; TORCHIA, M.G. **Embriologia básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

MUNETSUNA, Eiji et al. Maternal high-fructose intake increases circulating corticosterone levels via decreased adrenal corticosterone clearance in adult offspring. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 67, p. 44-50, 2019.

NEGRÃO, André B.; LICINIO, Julio. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 3, p. 205-214, 2000.

PEDROZA, A. et al. A maternal low-protein diet and neonatal overnutrition result in similar changes to glomerular morphology and renal cortical oxidative stress measures in male Wistar rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 44, n. 2, p. 164-171, 2018.

RAWANA, Sherlock et al. Low dose fructose ingestion during gestation and lactation affects carbohydrate metabolism in rat dams and their offspring. **The Journal of nutrition**, v. 123, n. 12, p. 2158-2165, 1993.

RODRÍGUEZ, Lourdes et al. Fructose during pregnancy affects maternal and fetal leptin signaling. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 10, p. 1709-1716, 2013.

RODRÍGUEZ, Lourdes et al. Maternal fructose intake induces insulin resistance and oxidative stress in male, but not female, offspring. **Journal of nutrition and metabolism**, v. 2015, 2015.

SARI, E. et al. Metabolic and histopathological effects of fructose intake during Pregestation, gestation and lactation in rats and their offspring. **J Clin Res Pediatr Endocrinol**, v. 7, n. 1, p. 19, 2015.

TAIN, You-Lin et al. Maternal fructose-intake-induced renal programming in adult male offspring. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 26, n. 6, p. 642-650, 2015.

TOOP, C. R. et al. Consumption of sucrose, but not high fructose corn syrup, leads to increased adiposity and dyslipidaemia in the pregnant and lactating rat. **Journal of developmental origins of health and disease**, v. 6, n. 1, p. 38-46, 2015.

TOOP, Carla R. et al. Impact of perinatal exposure to sucrose or high fructose corn syrup (HFCS-55) on adiposity and hepatic lipid composition in rat offspring. **The Journal of physiology**, v. 595, n. 13, p. 4379-4398, 2017.

TOOP, Carla R.; GENTILI, Sheridan. Fructose beverage consumption induces a metabolic syndrome phenotype in the rat: a systematic review and meta-analysis. **Nutrients**, v. 8, n. 9, p. 577, 2016.

YAMADA-OBARA, Nana et al. Maternal exposure to high-fat and high-fructose diet evokes hypoadiponectinemia and kidney injury in rat offspring. **Clinical and experimental nephrology**, v. 20, n. 6, p. 853-861, 2016.

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

YURUK, Armagan Aytug; NERGIZ-UNAL, Reyhan. Maternal dietary free or bound fructose diversely influence developmental programming of lipogenesis. **Lipids in health and disease**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2017.

ZAVARONI, Ivana; CHEN, Yli-Der Ida; REAVEN, Gerald M. Studies of the mechanism of fructose-induced hypertriglyceridemia in the rat. **Metabolism**, v. 31, n. 11, p. 1077-1083, 1982.

ZHANG, Pengjie et al. Synergetic effects of prenatal and postnatal high sucrose intake on glucose tolerance and hepatic insulin resistance in rat offspring. **Molecular nutrition & food research**, v. 62, n. 5, p. 1700771, 2018.

ANEXO 1



Universidade Federal de Uberlândia
 – Comissão de Ética na Utilização de Animais –



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Consequências renais e gastrointestinais na prole de ratas Wistar expostas a dietas ricas em carboidratos durante a gestação e lactação: efeitos do tratamento materno com resveratrol.", protocolo nº 015/19, 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 **28 de Junho de 2019**.

(We certify that the project entitled "Consequências renais e gastrointestinais na prole de ratas Wistar expostas a dietas ricas em carboidratos durante a gestação e lactação: efeitos do tratamento materno com resveratrol.", protocol 015/19, 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 June 28th, 2019).

Vigência do Projeto	Início: 12/08/2019 Término: 12/08/2022
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Rato heterogênico Wistar
Número de animais	50 Adultos 400 Filhotes
Peso / Idade	180g – 300g/ Adulto Filhotes – 1 dia – 7 dias – 30 dias – 90 dias
Sexo	Macho e Fêmeas
Origem / Local	Rede de Biotérios de Roedores da UFU – REBIR-UFU
Local onde serão mantidos os animais:	Rede de Biotérios de Roedores da UFU – REBIR-UFU

Uberlândia, 01 de Julho de 2019.


 Prof. Dr. **Lúcio Vilela Carneiro Girão**
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Comissão de Ética na Utilização de Animais /UFU
 Coordenador da CEUA
 Portaria Nº 542 DE 10 DE MAIO DE 2019