

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

CURSO DE BIOMEDICINA

IANCA MYLENA FREITAS DA CRUZ

**CONSUMO MATERNO DE DIETA RICA EM CARBOIDRATOS E OS EFEITOS
GASTROINTESTINAIS PARA A PROLE DE RATAS *Wistar*.**

UBERLÂNDIA

2022

IANCA MYLENA FREITAS DA CRUZ

**CONSUMO MATERNO DE DIETA RICA EM CARBOIDRATOS E OS EFEITOS
GASTROINTESTINAIS PARA A PROLE DE RATAS *WISTAR*.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado pela discente Ianca Mylena Freitas da Cruz 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

2022

IANCA MYLENA FREITAS DA CRUZ

**CONSUMO MATERNO DE DIETA RICA EM CARBOIDRATOS E OS EFEITOS
GASTROINTESTINAIS PARA A PROLE DE RATAS *WISTAR*.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado pela discente Ianca Mylena Freitas da Cruz 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.

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

2022

AGRADECIMENTOS

Gostaria de dedicar esse trabalho aos meus pais, que são também meus avós e sempre estiveram ao meu lado como grandes amigos, Severina e Zaqueo, vocês são minha base, me guiaram e me apoiaram por todo o caminho até chegar aqui e eu sou infinitamente grata por tudo que fizeram por mim, eu amo vocês e dedico a vocês a realização de mais esse sonho.

À minha orientadora, prof. Ana Paula, que me inspirou e me ajudou a me encontrar como profissional nessa área tão linda. Sou grata por cada conselho, pelo apoio e pela inspiração como profissional.

À minha mãe Priscila, ao meu padrasto Davi, aos meus tios Osana e Marco, por serem meus exemplos e sempre acreditarem em mim, pelo apoio, pelos conselhos e por fazerem parte da construção de quem sou hoje.

À minha irmã Lara, que sempre esteve ao meu lado, aos meus primos, que fizeram o papel de irmãos na minha vida, sempre me apoiando, Brendon, Brayan e Marco Filho.

Às minhas amigas de laboratório Ana Paula, Fernanda e Nathanny, tudo isso seria simplesmente impossível sem o apoio de vocês, obrigada por aceitarem esse desafio comigo.

A Deus, por ser a base da minha fé, e me dar a cada dia a sabedoria necessária para continuar.

“...mesmo que não tenhamos o poder de escolher quem vamos ser, ainda podemos escolher aonde iremos a partir daqui.”

Stephen Chbosky

RESUMO

Sabe-se que dietas maternas alteradas nos períodos da gestação e lactação podem programar doenças na vida adulta da prole. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos gastrointestinais na prole adulta de ratas *Wistar* tratadas com frutose (20%) ou sacarose (20%) durante a gestação e lactação. Para isso, as fêmeas grávidas foram separadas e seus filhotes machos divididos em três grupos: 1) Grupo Controle (C): filhotes (n=31) de mães que ingeriram água e ração comercial; 2) Grupos Frutose (F): filhotes (n=30) de mães que ingeriram solução de frutose 20% e ração comercial, e 3) Grupo Sacarose (S): filhotes (n=32) de mães que ingeriram solução de sacarose 20% e ração comercial. Ao completarem 90 dias, os filhotes passaram por avaliação funcional do sistema gastrointestinal, além da coleta de órgãos como estômago e segmentos intestinais (delgado: duodeno, jejuno e íleo; grosso: ceco, cólon e reto). Foi observado que as mães dos grupos experimentais ingeriram menos ração que as do grupo C ($p < 0,01$), entretanto, apenas as mães do grupo S ingeriram maior quantidade de líquido ($p < 0,01$ versus C; $p < 0,05$ versus F); a glicemia e o ganho de peso maternos não foram diferentes entre os grupos. Os filhotes do grupo F apresentaram menor peso em relação aos outros grupos ($p < 0,05$ versus C; $p < 0,01$ versus S), assim como maior peso relativo hepático ($p < 0,05$ versus C; $p < 0,01$ versus S) e menor comprimento do intestino delgado ($p < 0,05$ versus C e S), embora a glicemia não tenha diferido entre os grupos. Quanto aos dados funcionais, a susceptibilidade à úlcera, motilidade do intestino delgado e *enteropooling* não foram diferentes, mas os grupos experimentais apresentaram maior motilidade do intestino grosso ($p < 0,05$) se comparado ao grupo C. Após análise dos resultados, pode-se concluir que o consumo materno de dieta rica em carboidratos, na gestação e lactação, teve impactos estruturais e funcionais em órgãos do sistema gastrointestinal da prole de ratas *Wistar* e que o tipo de carboidrato ingerido pode interferir nesses resultados.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
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 Análises gastrointestinais.....	13
4.2.1 Avaliação da susceptibilidade à úlcera gástrica.....	13
4.2.2 Avaliação da motilidade do intestino delgado utilizando o modelo do trânsito do carvão ativado.....	14
4.2.3 Avaliação do acúmulo de líquido intestinal (<i>enteropooling</i>) produzido pelo óleo de rícino.....	14
4.2.4 Estudo da motilidade do cólon distal.....	15
4.3 Análise Estatística.....	15
5. RESULTADOS	16
5.1 Dados Maternos.....	16
5.2 Dados da prole.....	17
5.2.1 Glicemia e peso corporal da prole e relação peso do fígado; estômago/peso do corpo (ou peso relativo) e comprimento do intestino delgado.....	17
5.2.2 Dados funcionais dos filhotes de 90 dias.....	18
6. DISCUSSÃO	20
7. CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	24
ANEXO	28

1. INTRODUÇÃO

O sistema gastrointestinal (SGI) é constituído por órgãos interligados, delimitados por esfíncteres, com duas extremidades comunicantes com o meio ambiente (oral e anal), além de possuir glândulas anexas como o fígado, a vesícula biliar, o pâncreas e as glândulas salivares. Esse sistema desempenha como funções básicas: motilidade (movimentos peristálticos e de mistura), produção de secreções endócrina e exócrina, digestão de carboidratos, proteínas e lipídeos, absorção e excreção de substâncias (AIRES, 2018).

Para cada sistema desempenhar de forma adequada sua função, é necessário que o organismo passe pelo desenvolvimento fetal completo que, em humanos, ocorre durante o período gestacional, cerca de 40 semanas, já em roedores, a gestação tem um período de 21 dias (AMRI et al, 1999) e alguns órgãos completam seu desenvolvimento somente no período pós-natal (CHONG; BLOOMFIELD; O’SULLIVAN, 2018). Durante esse período qualquer estímulo adverso, quando tecidos e órgãos fetais estão em formação, pode se tornar um possível desencadeador de mudanças no desenvolvimento da prole e resultar em doenças na vida adulta. Essa teoria ficou conhecida como programação fetal, mas foi primeiramente chamada de “hipótese de Barker” (KWON; KIM, 2017; CRUZ-CARRILLO et al, 2020).

Baseando-se nessa hipótese, algumas pesquisas apontam que certos distúrbios em crianças e até mesmo em adultos, são respostas a condições maternas durante período gestacional ou até mesmo durante a lactação (KERELIUK; BRAWERMAN; DOLINSKY, 2017; ANDERSEN; ANDERSEN, 2021). Aliás, os primeiros mil dias de vida de um indivíduo constituem um período crítico para a definição do estado de saúde do ser humano para o resto da vida, devido à elevada velocidade de crescimento e desenvolvimento dos órgãos e sistemas (WOPEREIS et al, 2014; KOLETZKO et al, 2014). As dietas alteradas, com desbalanço entre os macronutrientes como excesso de carboidratos e gorduras, durante a gestação, podem levar a um desequilíbrio nutricional materno e provocarem na prole distúrbios como obesidade, doenças metabólicas e danos gastrointestinais (MCMILLEN; ROBINSON, 2005; REGNAULT et al., 2013; INGVORSEN et al, 2021).

Os principais alimentos utilizados pelo organismo como base para os processos biológicos são os carboidratos, gorduras e proteínas. Os carboidratos possuem em sua estrutura três átomos diferentes: o carbono, hidrogênio e oxigênio, e suas diferentes combinações formam diferentes tipos de carboidratos, como os monossacarídeos, os carboidratos mais simples (frutose), os dissacarídeos que são a junção de dois monossacarídeos (sacarose), os oligossacarídeos que são formados por dois ou mais monossacarídeos, podendo incluir até dez

e os polissacarídeos, que são formados por mais de dez monossacarídeos (GUYTON, 2017). Os carboidratos mais simples são mais facilmente utilizados para a produção de energia no organismo, por estarem em sua forma mais básica, podem ser encontrados em muitos doces e bebidas adoçadas, pela sua origem podem ser divididos em açúcares naturais, como a frutose e a lactose, ou os chamados “açúcares de adição”, que são retirados de uma fonte como a cana de açúcar e processados em seguida (LEVY et al, 2012; GUYTON, 2017; HOLESCH; ASLAM; MARTIN, 2021).

Dentre os monossacarídeos, dois dos mais conhecidos são a frutose e a glicose, além de serem os mais encontrados na alimentação, também fazem parte da composição de vários dissacarídeos como é o caso da sacarose (dissacarídeo frutose/glicose 50:50). Apesar de terem a mesma fórmula molecular ($C_6H_{12}O_6$), a frutose e a glicose se diferenciam quanto ao grupo característico de cada molécula, sendo que a frutose possui um grupo cetona e a glicose um aldeído. A frutose, em sua forma natural (sem misturas) é encontrada livremente em sua forma mais básica em vários tipos de frutas, porém é vendida comercialmente sendo adicionada a glicose em diferentes proporções, como o xarope de milho rico em frutose (frutose/glicose 55:45). Entretanto, o açúcar mais consumido atualmente é a sacarose, na maioria das vezes na forma de açúcar branco ou o conhecido açúcar de mesa, é o mais presente em bebidas adoçadas e alimentos processados (TOOP et al, 2017; KISIOGLU; NERGIZ-UNAL, 2018).

O consumo de muitos alimentos com alto teor de frutose e sacarose vem crescendo, principalmente quando se considera um predomínio de estilo de vida sedentário e uma dieta com alimentos processados e altamente calóricos (WYATT; WINTERS; DUBBERT, 2006; HOSSAIN; KAWAR; NAHAS, 2007). Apesar de o consumo desses carboidratos ser indicado, quando consumidos dentro de uma dieta balanceada, o seu significativo aumento nos últimos anos, tornou crescente o interesse pela repercussão desse consumo, principalmente durante o período gestacional (SLOBODA et al., 2014; HOLESCH; ASLAM; MARTIN, 2021).

Saad e colaboradores (2016) constataram que a ingestão elevada de frutose durante a gestação foi capaz de programar obesidade, hipertensão e disfunção metabólica na prole adulta de camundongos fêmeas C57BL/6J. Alzamendi e colaboradores (2010) relataram que filhotes de ratas que consumiram uma dieta rica em frutose, durante a gestação e lactação, desenvolveram obesidade na idade adulta, aumento do peso corporal, aumento da insulina, aumento do transporte de ácidos graxos para o músculo esquelético e desenvolvimento de distúrbios cardiovasculares e metabólicos.

2. JUSTIFICATIVA

Segundo Hannou e colaboradores (2018) o consumo excessivo de açúcares vem sendo considerado um fator determinante para uma possível epidemia de obesidade e diabetes. Considerando os impactos já conhecidos de dietas maternas ricas em açúcares para a saúde da prole, esse projeto tem como intuito analisar os danos gastrointestinais na prole de ratas *Wistar* que foram expostas a dietas ricas em carboidratos (sacarose e frutose), durante a gestação e lactação, e analisar se o tipo de carboidrato ingerido interfere nesses danos.

3. OBJETIVOS

3.1 Gerais

Avaliar os efeitos gastrointestinais na prole adulta de ratas *Wistar* expostas à dieta rica em diferentes carboidratos (sacarose e frutose), durante a gestação e lactação.

3.2 Específicos

Avaliar parâmetros maternos como consumos alimentar e hídrico, glicemia e ganho de peso durante a gestação/lactação.

Avaliar se os filhotes de mães expostas à dieta rica em carboidratos na gestação e lactação apresentam alterações no que diz respeito:

- a susceptibilidade à indução de úlcera gástrica;
- a motilidade dos intestinos delgado e grosso;
- ao *enteropooling*;
- ao desenvolvimento de órgãos como estômago, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e intestino grosso (ceco, cólon e reto).

Além disso, verificar se o tipo de carboidrato ingerido em excesso pelas mães terá repercussões gastrointestinais diferentes para a prole.

4. MATERIAL E MÉTODOS

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 distribuídas em estantes, em salas com temperatura controlada, ciclo claro-escuro de 12 horas, e com água e ração *ad libitum*, no Biotério Central da Rede de Biotérios de Roedores da UFU (REBIR/UFU). Todos os protocolos constantes nesse projeto encontram-se aprovados pelo Comitê de Ética na Utilização Animal (CEUA) da UFU (protocolo CEUA 015/19).

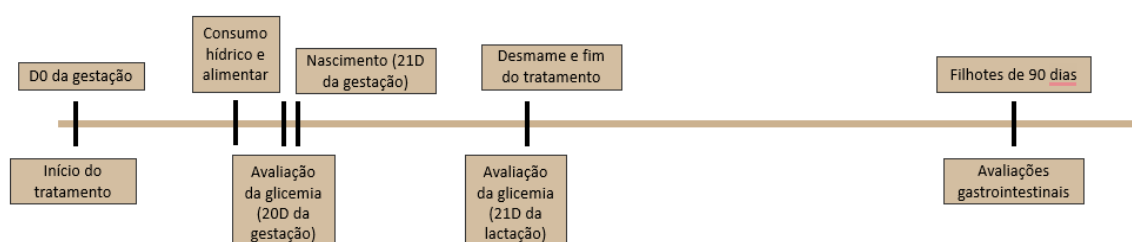
Os animais machos foram mantidos individualmente em suas caixas para reconhecimento de território e diariamente, ao final da tarde, as fêmeas foram colocadas nas caixas dos machos na proporção de 2 a 3 fêmeas para cada macho. No início da manhã do dia seguinte, foi realizado o esfregaço vaginal para detecção de uma possível gravidez, pela presença de espermatozoides no esfregaço. Uma vez grávidas, as fêmeas (C: n=10; F: n=12 e S: n=10) e seus filhotes machos foram divididos nos seguintes grupos:

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

Grupo 2 (Grupo Frutose: F – solução de frutose 20%): filhotes de 90 dias de mães que receberam ração comercial e solução de frutose 20% *ad libitum*, durante a gestação e lactação.

Grupo 3 (Grupo Sacarose: S – solução de sacarose 20%): filhotes de 90 dias de mães que receberam ração comercial e solução de sacarose 20% *ad libitum*, 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. 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 gestação, quando também foi avaliada a glicemia por ordenha da cauda, com o auxílio de um glicosímetro.

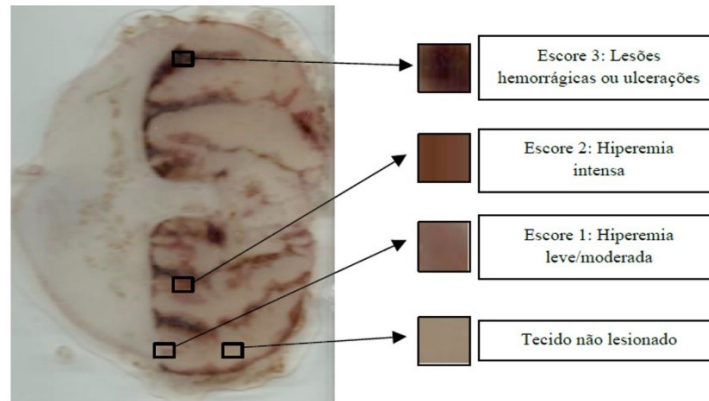


4.2 Análises Gastrointestinais

Foram realizadas análises gástricas nos filhotes machos de 90 dias como área total do estômago, peso do órgão e relação entre o peso do estômago e peso corporal, além da susceptibilidade à úlcera. Quanto ao intestino delgado, foram avaliados o comprimento total, peso do órgão, relação entre o peso intestinal e peso corporal, *enteropooling* e motilidade intestinal. Já para o intestino grosso, o parâmetro funcional avaliado foi a motilidade colônica distal. É importante destacar que, para todos os experimentos funcionais do SGI, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas e todos os órgãos citados (estômago, porções dos intestinos delgado e grosso) foram coletados para análises morfométricas, que não foram apresentadas nesse trabalho.

4.2.1 Avaliação da susceptibilidade à úlcera gástrica

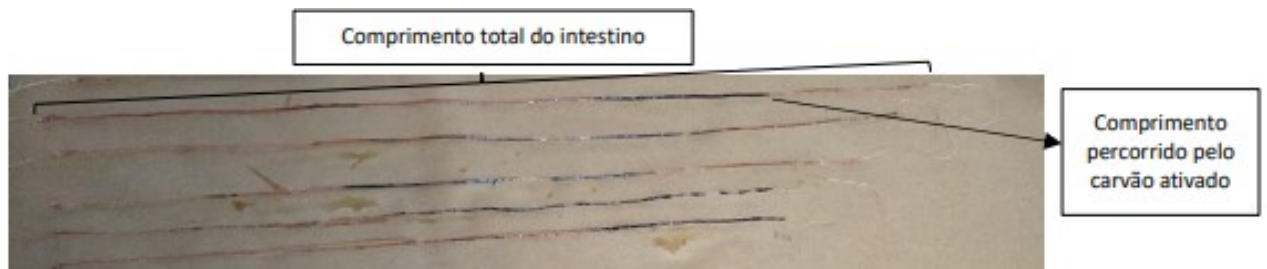
Com auxílio de uma cânula de gavagem foi administrada (via intragástrica) 0,8 mL/100g de peso corporal de solução hidroalcoólica (0,3M de HCl/ etanol 60%), com intuito de induzir lesões gástricas e testar a suscetibilidade à úlcera gástrica dos filhotes machos de 90 dias (C: n=7; F: n=7; S: n=8). Depois de 1h, os animais foram eutanasiados por dose letal do anestésico isoflurano, confirmado a seguir pela ausência de reflexo corneal e batimentos cardíacos. 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). O IU foi determinado como previamente descrito (PRADO et al, 2014): $IU = 3X \text{ área de lesão hemorrágica (mm}^2) + 2X \text{ área de hiperemia intensa (mm}^2) + 1X \text{ área de hiperemia leve/moderada (mm}^2)$.



Fonte: REZENDE, 2018.

4.2.2 Avaliação da motilidade do intestino delgado utilizando o modelo do trânsito do carvão ativado

Os filhotes machos de 90 dias (C: n=7; F: n=7; S: n=8) receberam 0,8 mL/100g de peso corporal da suspensão de carvão ativado 5% em solução de carboximetilcelulose 0,5% por gavagem. Seguidos 30 min da administração da suspensão, os animais foram eutanasiados por dose letal do anestésico isoflurano, confirmado a seguir pela ausência de reflexo corneal e batimentos cardíacos. Em seguida o intestino delgado foi removido para a determinação da distância percorrida pelo carvão ativado (expresso em % do comprimento do intestino) (HARRISON et.al, 2004; UDDIN et al., 2005).



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

Os filhotes machos de 90 dias (C: n=14; F: n=14; S: n=16) 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 eutanasiados por dose letal do anestésico isoflurano, confirmado a seguir pela ausência de reflexo corneal e batimentos cardíacos. Foi realizada a laparotomia, seguida de amarração e isolamento do intestino delgado, o qual será 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 $enteropooling = (ICIV)/\text{peso do animal (em mg/g X1000)}$.

4.2.4 Estudo da motilidade do cólon distal

Após jejum de 12h, foi introduzida uma esfera de plástico de 5 mm de diâmetro no cólon distal (distância de 2,5 cm) dos filhotes de 90 dias (C: n=8; F: n=7; S: n=7), 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 Análise estatística

Para os parâmetros analisados utilizamos o programa GraphPad Prism (versão 7.00-Trial), empregando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se os dados apresentavam ou não distribuição normal (Gaussiana). Os dados que apresentaram distribuição normal foram analisados por teste paramétrico (ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls ou Two-way ANOVA com pós-teste de Bonferroni), e os dados que não apresentaram distribuição normal foram avaliados por teste não paramétrico (Kruskall-Wallis com pós-teste de Dunn). O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

- dados maternos: ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls - consumos de líquido e de ração; ANOVA duas vias com pós-teste de Bonferroni - glicemia; Kruskall-Wallis com pós-teste de Dunn - ganho de peso na gestação.

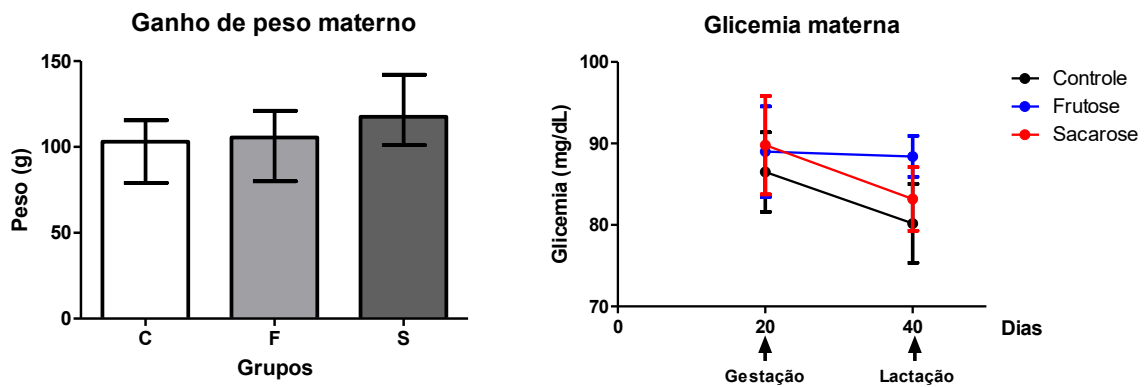
- dados de prole: ANOVA com pós-teste de Tukey – glicemia, peso corporal, pesos relativos gástrico, intestinal e hepático, comprimento do intestino delgado e motilidades do intestino delgado e grosso; Kruskall-Wallis com pós-teste de Dunn – enteropooling.

5. RESULTADOS

5.1 Dados maternos

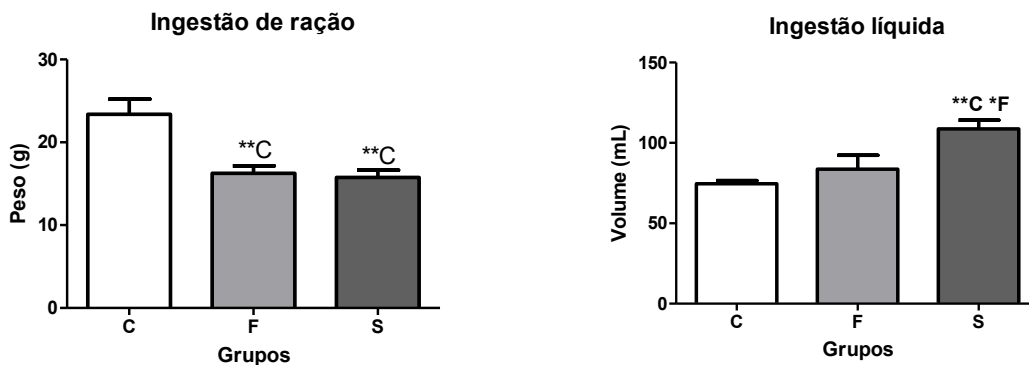
O ganho de peso e a glicemia maternos não foram diferentes entre os grupos estudados (Fig.1). No entanto, as mães dos grupos experimentais (F e S) consumiram menos ração que as mães controles, enquanto que a ingestão materna de líquidos foi maior somente no grupo S, em relação aos demais grupos (C e F) (Fig. 2).

Figura 1. Ganho de peso e glicemia maternos



Ganho de peso durante a gestação dos grupos C (n=10), F (n=12) e S (n=10): Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Os valores representam a mediana com IQ 75 e IQ 25. Glicemia materna dos grupos C (n=10), F (n=12) e S (n=10): ANOVA duas vias com pós-teste de Bonferroni. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Figura 2. Gráfico do consumo materno de ração e líquidos



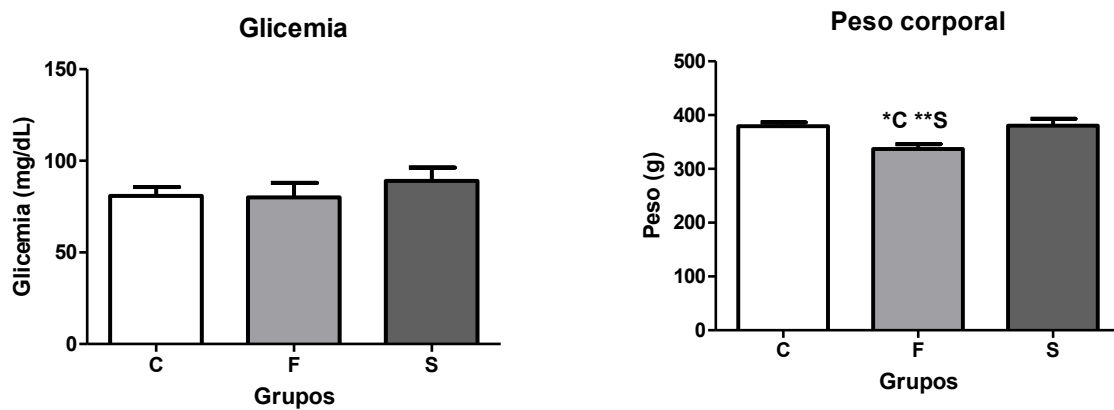
Ingestão de ração e de líquido das mães dos grupos C (n=10), F (n=12) e S (n=10): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. **C: $p < 0,01$ versus grupo Controle; *F: $p < 0,05$ versus grupo Frutose.

5.2 Dados da prole

5.2.1 Glicemia e peso corporal da prole e relação peso do fígado; estômago/peso do corpo (ou peso relativo) e comprimento do intestino delgado

A glicemia dos filhotes de 90 dias não foi diferente entre os grupos estudados (Fig. 3), mas o peso corporal foi menor na prole do grupo F, quando comparada aos demais grupos (C e S). Com relação a alguns órgãos do sistema digestório, apesar do peso relativo do estômago não ter variado entre os grupos, o peso relativo hepático foi maior e o comprimento do intestino delgado menor nos filhotes de 90 dias do grupo F, em relação aos grupos C e S (Fig. 4).

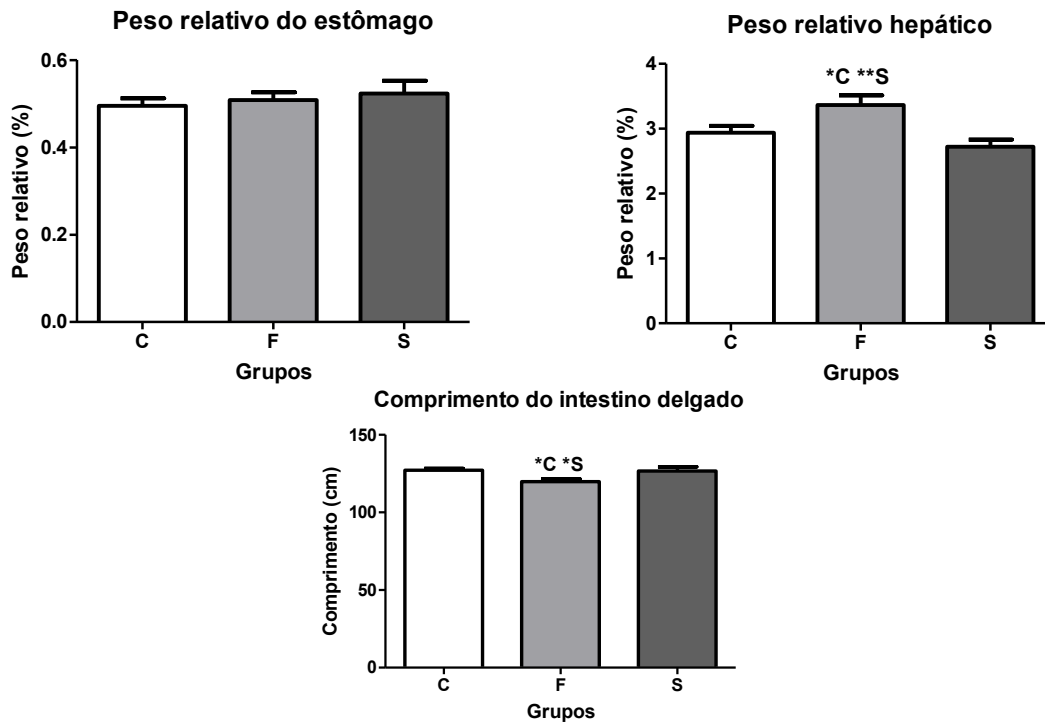
Figura 3. Gráfico da glicemia e peso corporal da prole



Glicemia e Peso corporal dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=8), F (n=7) e S (n=7): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

*C: $p < 0,05$ versus grupo Controle; **S: $p < 0,01$ versus grupo Sacarose.

Figura 4. Gráfico do peso relativo do estômago; fígado e comprimento do intestino delgado

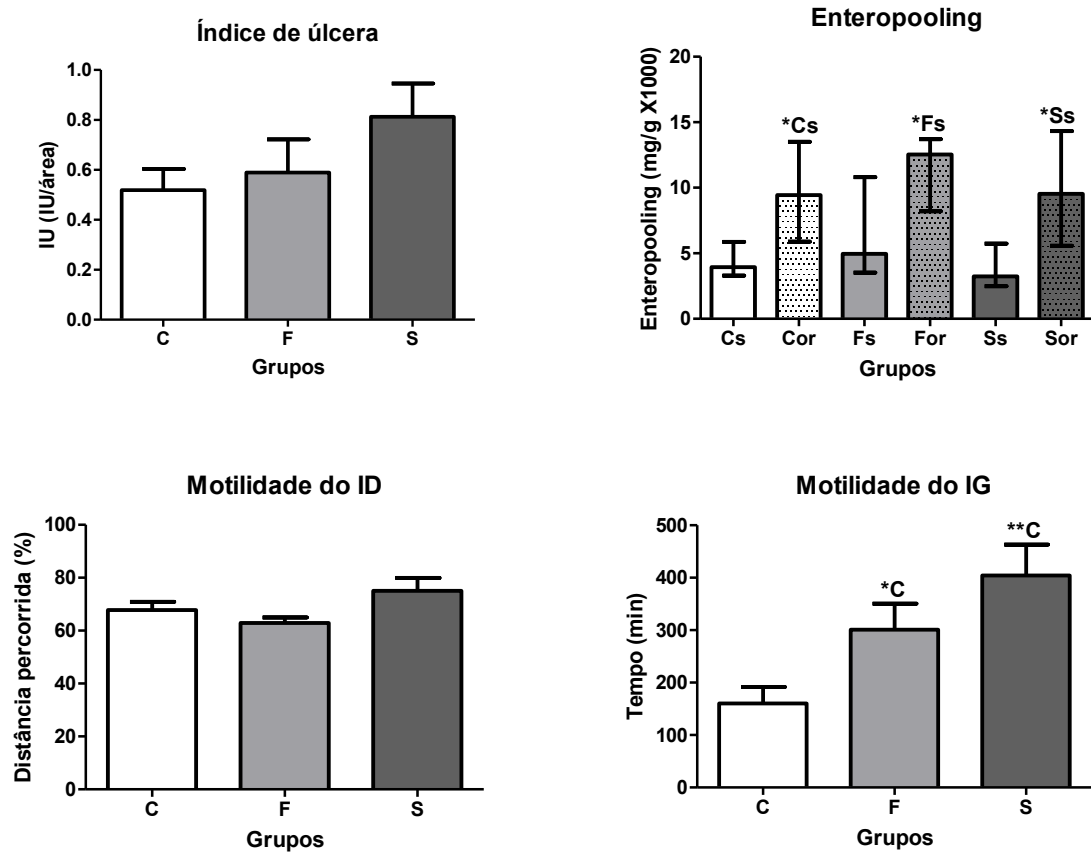


Pesos relativos do estômago e hepático e comprimento do intestino delgado dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=8), F (n=7) e S (n=7): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média \pm EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ versus grupo Controle; **S: $p < 0,01$ versus grupo Sacarose; *S: $p < 0,05$ versus grupo Sacarose.

5.2.2 Dados funcionais dos filhotes de 90 dias

Quanto aos estudos funcionais realizados nos filhotes de 90 dias, não foram registradas diferenças no índice de úlcera e nem na motilidade do intestino delgado, apesar de uma certa tendência de aumento no grupo S. O *enteropooling* foi maior em todos os animais que receberam óleo de rícino, quando comparados aos que receberam solução salina, mas a resposta não diferiu entre os grupos. Já a motilidade do intestino grosso foi maior nos grupos F e S em relação ao grupo C (Fig.5).

Figura 5. Gráfico dos estudos funcionais de índice de úlcera, motilidade do intestino delgado, *enteropooling* e motilidade do intestino grosso



Índice de úlcera e motilidades do intestino delgado e grosso dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=14), F (n=14) e S (n=16): ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls. Os resultados representam a média \pm EPM. *Enteropooling* dos filhotes de 90 dias dos grupos C (n=7), F (n=7) e S (n=8): 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 $p < 0,05$. *Cs: $p < 0,05$ versus grupo Controle salina; *Fs: $p < 0,05$ versus grupo Frutose salina; *Ss: $p < 0,05$ versus grupo Sacarose salina; *C: $p < 0,05$ versus Grupo Controle; **C: $p < 0,01$ versus grupo Controle.

6. DISCUSSÃO

A relação entre várias doenças, processos patológicos e suas possíveis origens dentro do ambiente intrauterino, vem sendo estudadas cada vez mais pela programação fetal, já que o ambiente intrauterino em desenvolvimento e a grande maleabilidade celular e estrutural inerentes a ele são pontos críticos para impactos negativos e/ou positivos durante o período gestacional. Assim, agindo como resposta a eventos extrauterinos, o organismo, de forma adaptativa, pode levar a alteração em vários órgãos da prole (PETERSON et al, 2021). Desta forma, o presente trabalho utilizou a dieta rica em carboidratos (sacarose e frutose), durante a gestação e a lactação de ratas *Wistar*, como fator adverso para observar quais impactos gastrointestinais poderiam ser causados à prole.

O SGI desempenha uma das funções mais essenciais do organismo, o suprimento nutricional, é nele que a primeira etapa de absorção de água e nutrientes acontece, sendo a principal etapa para que as células consigam produzir energia para desempenhar seu papel no organismo. Para o funcionamento ideal desse sistema, o seu desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal adequado é primordial (CHONG; BLOOMFIELD; O’SULLIVAN, 2018). Embora estudos recentes constatem o aumento da ingestão de carboidratos nos últimos anos, e como sua introdução na dieta materna vem sendo cada vez mais relevante na saúde da prole, seja na alteração da microbiota intestinal ou através de vários sintomas presentes na síndrome metabólica, estudos direcionados ao SGI, quanto a sua estrutura e função, são ainda escassos (HSU et al, 2022).

Em relação aos dados maternos, observou-se menor consumo de ração pelos grupos experimentais, comparando-os ao grupo C, enquanto a ingestão líquida foi maior apenas no grupo S. Esses dados mostram que a maior oferta de calorias contida nas soluções ricas em carboidratos (frutose e sacarose), provavelmente levou a um menor consumo de ração, uma vez que os animais só se alimentam para garantir suas necessidades energéticas. Já a ingestão líquida foi maior no grupo S, em relação aos demais grupos. O fato de a sacarose aumentar a osmolalidade plasmática dos animais do grupo S pode explicar o aumento da sede e, portanto, o maior consumo de líquidos por esse grupo. No estudo de Chapman e colaboradores (2020), feito com 12 adultos saudáveis, foi possível observar que, a ingestão de frutose e sacarose contida em diferentes refrigerantes – apesar de os efeitos serem observados a curto prazo –, alterou de forma significativa a osmolalidade dos indivíduos. Entretanto, a concentração de frutose no estudo era maior que a de sacarose, sendo um indicativo que os efeitos da sacarose na osmolalidade são mais intensos, podendo justificar (apesar de os estudos serem feitos em

organismos diferentes) os dados encontrados no presente trabalho. Apesar dessas variações, o ganho de peso e a glicemia maternos, durante a gestação e a lactação, não foi diferente entre os grupos. Toop e colaboradores (2015) iniciaram a administração de soluções de sacarose e frutose 10% uma semana antes da gestação e observaram que as mães dos grupos experimentais também apresentaram maior consumo de líquidos e menor consumo de ração, apesar do peso e glicemia maternos não terem sido diferentes entre os grupos estudados.

No presente trabalho, a glicemia da prole adulta não foi diferente entre os grupos, mas o peso dos animais do grupo F foi menor, se comparado aos grupos C e S. No estudo de Toop e colaboradores (2017), o peso e glicemia dos filhotes de 3 e 12 semanas também não diferiram, além da concentração de sacarose e frutose ser menor (10%), mas ter sido ofertada às mães uma semana antes da gestação. Essas fêmeas parecem ter ingerido líquidos e se alimentarem de forma a compensar o excesso de carboidratos com que estavam sendo tratadas, isto é, dado que consumiam mais calorias sob a forma líquida, diminuíram a ingestão alimentar, desenvolvendo dessa forma, um equilíbrio quanto a ingestão total calórica. No estudo atual, apesar de uma concentração maior de carboidratos (20%), e de as fêmeas do grupo S também se comportarem de forma a manter um equilíbrio quanto a ingestão calórica total, as fêmeas do grupo F ingeriram a mesma quantidade de líquidos que as controles – isto é, uma quantidade menor que a do grupo S –, entretanto, também diminuindo a ingestão alimentar, assim como o outro grupo experimental, mantendo uma ingestão calórica total menor que a dos outros dois grupos. A hipótese que pode ser discutida com os dados apresentados seria a ligação entre a menor ingestão calórica feita pelas mães do grupo F e a consequente diminuição do peso da prole, em comparação aos outros grupos.

A nutrição materna é um importante fator para a maturação do SGI, visto que do período pré-natal até o período pós-natal, a única fonte de nutrição do embrião, feto, ou recém-nascido, vem da disponibilidade de nutrientes maternos, assim tanto o peso/massa, quanto o comprimento dos órgãos digestivos, são influenciados pela nutrição materna (INNIS et al, 2010; MORTENSEN et al, 2010). No presente trabalho, apesar do peso relativo do estômago não ter diferido entre os grupos, os filhotes de 90 dias do grupo F apresentaram maior peso relativo hepático e menor comprimento total do intestino, quando comparados aos outros grupos. Embora Toop e colaboradores (2017) também não tenham encontrado diferenças nesses parâmetros, Koo e colaboradores (2021) encontraram peso relativo hepático maior na prole de camundongos fêmeas C57BL/6J tratadas com frutose 20%. Vale destacar que a ingestão de frutose nesses dois estudos se mostra como um fator diferencial para os resultados apresentados.

Ou seja, o consumo materno de frutose pode alterar o desenvolvimento de órgãos como fígado e intestino delgado da prole.

Os efeitos de uma dieta rica em carboidratos nas funções do SGI ainda não estão bem documentados na literatura, entretanto, pode-se observar através de estudos baseados em outras dietas alteradas, como nas dietas hiperlipídicas e hipercalóricas, que efeitos como a alteração na microbiota intestinal, além do aumento de células caliciformes e posterior aumento de produção de muco possam ser vistos (ISHII et al, 2009; RODRÍGUEZ-DAZA et al, 2020). No artigo de Ishii e colaboradores (2009), ratos machos da linhagem *Sprague-Dawley* foram divididos em grupo controle, não-tratado, e grupos experimentais, tratados a base de triglicerídeos de cadeia média (MCTs) ou óleo de milho, diariamente por gavagem durante 2 semanas, recebendo ração e água *ad libitum*. Após esse período, os animais foram eutanasiados e amostras de tecidos do SGI foram coletadas, na análise histológica pode-se observar que o número de células caliciformes presentes nas vilosidades, teve aumento significativo quando comparados grupos experimentais com o controle. Apesar de não existirem estudos sobre a dieta estudada nesse trabalho e sua repercussão nos órgãos digestórios, através dos trabalhos citados acima, pode-se observar que alterações na alimentação são pontos críticos para a alteração da morfologia e sua consequente alteração funcional.

Sob esse ponto de vista, as dietas ricas em carboidratos não interferiram na susceptibilidade à úlcera (apesar da tendência de aumento no grupo S), no enteropooling e nem na motilidade do intestino delgado, embora tenha ocorrido um impacto estrutural nesse último, dado seu menor tamanho, mas aumentaram a motilidade do intestino grosso, mostrando que os filhotes desses grupos podem apresentar índice diarreico maior. Trabalhos anteriores mostraram que várias alterações na barreira intestinal, desde a camada de muco, que possui mais contato com o lúmen intestinal, até as células epiteliais do tecido, sofrem alterações que podem prejudicar de forma direta as várias funções do intestino grosso, como o metabolismo descontrolado de frutose pode causar a menor expressão de proteínas TJ (zônula de oclusão) entre as células epiteliais, causando o aumento da permeabilidade da parede intestinal e posterior inflamação da mucosa (BERGHEIM et al, 2008; JOHNSON et al, 2013; KHOSHBBIN; CAMILLERI, 2020; STOLFI et al, 2022). No estudo de Laukoetter e colaboradores (2007), a mucosa de camundongos com deficiência da Molécula de Adesão Juncional (JAM-A) foi analisada e observou-se aumento da inflamação e permeabilidade no cólon desses animais, mostrando que alterações na estrutura podem repercutir na função.

7. CONCLUSÃO

O consumo materno da dieta rica em carboidratos, durante os períodos da gestação e lactação, resultou em alterações estruturais e funcionais de determinados órgãos gastrointestinais na prole de ratas *Wistar* e o tipo de carboidrato interferiu nesses resultados, com repercussões diferentes. No entanto, as análises morfológicas e morfométricas precisam ser concluídas, pois mostrarão mais detalhes sobre as alterações estruturais nesses órgãos e se essas podem estar relacionadas às alterações funcionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES M. M. et al. **Fisiologia**; 5.ed., 2018.

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.

ANDERSEN, Stine Linding; ANDERSEN, Stig. Hyperthyroidism in pregnancy: evidence and hypothesis in fetal programming and development. **Endocrine Connections**, v. 10, n. 2, p. R77-R86, 2021.

BERGHEIM, Ina et al. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. **Journal of hepatology**, v. 48, n. 6, p. 983-992, 2008.

CHAPMAN, Christopher L. et al. High-fructose corn syrup-sweetened soft drink consumption increases vascular resistance in the kidneys at rest and during sympathetic activation. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, 2020.

CHONG, Clara Yieh Lin; BLOOMFIELD, Frank H.; O'SULLIVAN, Justin M. Factors affecting gastrointestinal microbiome development in neonates. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 274, 2018.

CRUZ-CARRILLO, Gabriela et al. Fetal programming by methyl donors modulates central inflammation and prevents food addiction-like behavior in rats. **Frontiers in neuroscience**, v. 14, p. 452, 2020.

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

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Fisiologia humana**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

HANNOU, Sarah A. et al. Fructose metabolism and metabolic disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 128, n. 2, p. 545-555, 2018.

HARRISON, A. P. et al. Gastrointestinal-tract models and techniques for use in safety pharmacology. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v. 49, n. 3, p. 187-199, 2004.

HOLESH, Julie E.; ASLAM, Sanah; MARTIN, Andrew. Physiology, Carbohydrates. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2021.

HOSSAIN, Parvez; KAWAR, Bisher; EL NAHAS, Meguid. Obesity and diabetes in the developing world—a growing challenge. **New England journal of medicine**, v. 356, n. 3, p. 213-215, 2007.

HSU, Chien-Ning et al. The Impact of Gut Microbiome on Maternal Fructose Intake-Induced Developmental Programming of Adult Disease. **Nutrients**, v. 14, n. 5, p. 1031, 2022.

INGVORSEN, Camilla et al. Effects of maternal high-fat/high sucrose diet on hepatic lipid metabolism in rat offspring. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 48, n. 1, p. 86-95, 2021.

INNIS, Sheila M. et al. Perinatal lipid nutrition alters early intestinal development and programs the response to experimental colitis in young adult rats. **American Journal of Physiology-gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 299, n. 6, p. G1376-G1385, 2010.

ISHII, Kenichi et al. Medium-chain triglycerides enhance mucous secretion and cell proliferation in the rat. **Journal of gastroenterology**, v. 44, n. 3, p. 204-211, 2009.

JOHNSON, Richard J. et al. Fructokinase, fructans, intestinal permeability, and metabolic syndrome: an equine connection? **Journal of equine veterinary science**, v. 33, n. 2, p. 120-126, 2013.

KERELIUK, Stephanie M.; BRAWERMAN, Gabriel M.; DOLINSKY, Vernon W. Maternal macronutrient consumption and the developmental origins of metabolic disease in the offspring. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 7, p. 1451, 2017.

KHOSHBIN, Katayoun; CAMILLERI, Michael. Effects of dietary components on intestinal permeability in health and disease. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 319, n. 5, p. G589-G608, 2020.

KOLETZKO, Berthold et al. The Power of Programming and the EarlyNutrition project: opportunities for health promotion by nutrition during the first thousand days of life and beyond. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 64, n. 3-4, p. 187-196, 2014.

- KOO, Soohyeon et al. Maternal high-fructose intake during pregnancy and lactation induces metabolic syndrome in adult offspring. **Nutrition Research and Practice**, v. 15, n. 2, p. 160-172, 2021.
- 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.
- KWON, Eun Jin; KIM, Young Ju. What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. **Obstetrics & gynecology science**, v. 60, n. 6, p. 506-519, 2017.
- LAUKOETTER, Mike G. et al. JAM-A regulates permeability and inflammation in the intestine in vivo. **The Journal of experimental medicine**, v. 204, n. 13, p. 3067-3076, 2007.
- 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.
- MCMILLEN, I. Caroline; ROBINSON, Jeffrey S. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. **Physiological reviews**, v. 85, n. 2, p. 571-633, 2005.
- 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.
- PETERSON, Maria et al. Maternal Under-and Over-Nutrition during Gestation Causes Islet Hypertrophy and Sex-Specific Changes to Pancreas DNA Methylation in Fetal Sheep. **Animals**, v. 11, n. 9, p. 2531, 2021.
- PRADO, Ligia Carolina et al. The gastroprotective effects of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) leaf extract: the possible role of condensed tannins. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, n. 5, p. 722-730, 2014.
- REGNAULT, Timothy RH et al. Fructose, pregnancy and later life impacts. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 40, n. 11, p. 824-837, 2013.
- ROBERT, A. et al. Enteropooling assay: a test for diarrhea produced by prostaglandins. **Prostaglandins**, v. 11, n. 5, p. 809-828, 1976.

RODRÍGUEZ-DAZA, Maria-Carolina et al. As proantocianidinas de mirtilo selvagem moldam um perfil distinto da microbiota intestinal e influenciam a homeostase da glicose e os fenótipos intestinais em camundongos alimentados com alto teor de gordura e alto teor de sacarose. **Relatórios científicos**, v. 10, n. 1, pág. 1-16, 2020.

SAAD, Antonio F. et al. High-fructose diet in pregnancy leads to fetal programming of hypertension, insulin resistance, and obesity in adult offspring. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 215, n. 3, p. 378. e1-378. e6, 2016.

SLOBODA, Deborah M. et al. Early life exposure to fructose and offspring phenotype: implications for long term metabolic homeostasis. **Journal of obesity**, v. 2014, 2014.

STOLFI, Carmine et al. Implication of intestinal barrier dysfunction in gut dysbiosis and diseases. **Biomedicines**, v. 10, n. 2, p. 289, 2022.

UDDIN, S. J. et al. Antidiarrhoeal activity of the methanol extract of the barks of *Xylocarpus moluccensis* in castor oil-and magnesium sulphate-induced diarrhoea models in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 1-3, p. 139-143, 2005.

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.

WOPEREIS, Harm et al. The first thousand days—intestinal microbiology of early life: establishing a symbiosis. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 25, n. 5, p. 428-438, 2014.

WYATT, Sharon B.; WINTERS, Karen P.; DUBBERT, Patricia M. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. **The American journal of the medical sciences**, v. 331, n. 4, p. 166-174, 2006.

ANEXO



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 Fêmea
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