



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA - UFU

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS - ICBIM

GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

FERNANDA BUSNARDO DE OLIVEIRA

**REPERCUSSÕES RENAIIS E METABÓLICAS PARA A PROLE DE RATAS *WISTAR*
TRATADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA DURANTE A GRAVIDEZ E A
LACTAÇÃO: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS DIETAS COM 28 E 40% DE
LIPÍDEOS.**

UBERLÂNDIA

2017

FERNANDA BUSNARDO DE OLIVEIRA

**REPERCUSSÕES RENAIIS E METABÓLICAS PARA A PROLE DE RATAS *WISTAR*
TRATADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA DURANTE A GRAVIDEZ E A
LACTAÇÃO: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS DIETAS COM 28 E 40% DE
LIPÍDEOS.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do
Uberlândia como requisito obrigatório para a obtenção do
título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof. Dra. Ana Paula Coelho Balbi

UBERLÂNDIA

2017

FERNANDA BUSNARDO DE OLIVEIRA

**REPERCUSSÕES RENAIIS E METABÓLICAS PARA A PROLE DE RATAS *WISTAR*
TRATADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA DURANTE A GRAVIDEZ E A
LACTAÇÃO: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS DIETAS COM 28% E 40% DE
LIPÍDEOS.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do
Uberlândia como requisito obrigatório para a obtenção do
título de Bacharel em Biomedicina.

Banca de Avaliação:

Prof. Dr. Luiz Borges Bispo-da-Silva
(Instituto de Ciências Biomédicas ICBIM - UFU)

Profa. Dra. Karen Renata Nakamura Hiraki
(Instituto de Ciências Biomédicas ICBIM - UFU)

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

Uberlândia, 23 de novembro de 2017

Agradecimentos

Gostaria de fazer um agradecimento especial aos meus pais, Carmem e Ricardo, que me guiaram e me apoiaram durante todos os meus caminhos até aqui. Esta é mais uma etapa importante da minha vida que eu tenho o grande prazer de compartilhar com vocês.

À minha orientadora e amiga, prof. Ana Paula, que me inspirou durante todos estes anos com sua grande paixão pela sua profissão. Muito obrigada pelo apoio, compreensão e por todos os seus preciosos conselhos sobre a vida. Levarei seus ensinamentos comigo para sempre.

À equipe do laboratório de Fisiologia e Farmacologia, Victor, Helena, Jéssica, Felipe, Maria Vitória, Natália, Rafaela, Ingrid, Yann e Juliana, que sempre me auxiliaram nos experimentos e na vida acadêmica. Muito obrigada pelos momentos de descontração e apoio emocional. Vocês são incríveis.

Aos professores da graduação Luiz Borges Bispo da Silva, Alberto da Silva Moraes, Luiz Fernando Moreira Izidoro, Ana Paula Coelho Balbi e Tarciso Tadeu Miguel pelas valiosas aulas e palestras ministradas que me fizeram ter cada dia mais amor pela ciência.

Aos meus amores e à minha segunda família, que me incentivaram a buscar a minha felicidade acima de tudo. Eu amo vocês, Felipe, Stephânia, Vitória, Ingrid, Lucas, Arthur, Yann, Carolina e Igor.

“Que nada nos defina, que nada nos sujeite. Que a liberdade seja a nossa própria substância, já que viver é ser livre.”

Simone de Beauvoir

RESUMO

Mudanças na ingestão calórica durante a gravidez e a lactação podem resultar em maior risco de desenvolvimento de doenças na vida adulta da prole. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os impactos renais e metabólicos para a prole de ratas *Wistar* tratadas com dieta hiperlipídica contendo diferentes teores de lipídeos (28 e 40%), durante a gravidez e a lactação. As fêmeas grávidas foram separadas e seus filhotes divididos nos grupos: Controle - filhotes de 1, 7, 30 e 90 dias de idade de mães que receberam dieta comercial normolipídica (3,5% de lipídeos); Experimental 1 (E1) - filhotes de 1, 7, 30 e 90 dias de idade de mães que receberam dieta hiperlipídica (28% de lipídeos); e Experimental 2 (E2) - filhotes de 1, 7, 30 e 90 dias de idade de mães que receberam dieta hiperlipídica (40% de lipídeos). As dietas foram mantidas durante a gestação e lactação. Foram verificados dados maternos e da prole de diferentes idades. Quanto aos dados maternos, houve diminuição na quantidade de ração ingerida por E2 quando comparado aos demais grupos. O consumo calórico diário foi maior em E1, enquanto os consumos proteico e glicídico menores em E2, apesar do ganho de peso ter sido maior em E2, em relação aos outros grupos. Os filhotes adultos de E1 apresentaram maior glicemia, enquanto a prole de E2 apresentou alterações no TOTG. Quanto à análise morfométrica, em ambos os grupos experimentais, houve aumento do tufo glomerular e da área do corpúsculo renal, mas aumento da área do espaço capsular somente em E1. Houve diminuição na TFG dos animais de E1, em contraste ao aumento na TFG dos animais de E2, juntamente com um aumento de EUP. Um aumento da PAS foi observado somente em E1. Pode-se concluir que o teor de lipídeos (28 ou 40%) provocou alterações importantes na prole de ratas *Wistar*, mas repercutiu de forma diferente no tipo e/ou magnitude da alteração registrada.

Palavras-chave: Desenvolvimento Renal; Dieta Hiperlipídica; Função Renal e Pressão Arterial.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. JUSTIFICATIVA.....	11
3. OBJETIVOS	12
3.1 OBJETIVO GERAL	12
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
4. METODOLOGIA	13
4.1 Animais	13
4.2 Composição das dietas	14
4.3 Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG)	15
4.4 Análise Morfométrica	15
4.5 Estudos de função renal (Taxa de filtração Glomerular - TFG) e Excreção Urinária de Proteína (EUP).....	15
4.6 Determinação de colesterol total e triglicerídeos	16
4.7 Determinação da pressão arterial sistólica (PAS)	16
4.8 Análise estatística.....	17
5. RESULTADOS	18
5.1 Dados maternos	18
5.1.1 Consumo diário de ração, consumo calórico diário e consumo de carboidratos, proteínas e lipídeos	18
5.1.2 Variação de peso corporal e número de filhotes (machos e fêmeas).....	20
5.1.3 Glicemia materna	21
5.2 Dados dos filhotes de todas as idades	22

5.2.1	Peso corporal da prole e relação peso do rim/peso do corpo	22
5.3	Dados dos filhotes de 90 dias.....	23
5.3.1	Glicemia da prole e Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG).....	23
5.3.2	Colesterol total e triglicerídeos.....	25
5.3.3	Taxa de filtração glomerular (TFG)	26
5.3.4	Excreção urinária de proteína (EUP).....	27
5.3.5	Pressão Arterial Sistólica (PAS).....	28
5.3.6	Análise Morfométrica: Área do Corpúsculo Renal, Área do Tufo Glomerular e Área do Espaço Capsular.	29
6.	DISCUSSÃO.....	30
7.	CONCLUSÃO	35
8.	REFERÊNCIAS	36
9.	ANEXO.....	41

1. INTRODUÇÃO

A nefrogênese em humanos se inicia entre a 7ª e 8ª semana de gestação e se completa por volta da 35ª semana, mas a maturação estrutural e funcional renal continua mesmo após o nascimento. A produção de urina e a filtração glomerular fetal tem início entre a 9ª e a 10ª semana de gravidez e a reabsorção tubular começa por volta da 12ª semana. A homeostase de fluidos no feto é mantida pela placenta e a principal função dos rins neste período é garantir a formação do líquido amniótico e a regulação da pressão arterial fetal (BOTWINSKI & FALCO, 2014). Em roedores, considerando a gestação com duração de 21 dias, a nefrogênese se inicia por volta do 12º dia de gestação (AMRI et al., 1999) e se completa entre 10 e 15 dias após o nascimento (NIGAM et al., 1996; REEVES et al., 1978). Durante este processo, os rins vão sofrendo diversas mudanças estruturais a fim de garantir a homeostase do feto. Deste modo, a vida intrauterina encontra-se como um momento crucial para o desenvolvimento renal (BITSORI, 2012).

A exposição de fetos a diversos agentes ou doenças maternas durante a organogênese pode resultar em “fetal programming”. Este termo, criado por Hales e Barker em 2001, elucida que a necessidade de adaptação do feto a um ambiente intrauterino hostil pode acarretar em mudanças fisiológicas permanentes para o indivíduo na vida adulta, que ocorrem devido à plasticidade celular existente nesta fase do desenvolvimento fetal (LANGLE-EVANS, 2014; NEHIRI et al., 2008).

A alta ingestão de calorias durante a gravidez pode ser considerada como um dos principais fatores que predis põem ao aparecimento de obesidade infantil (PARRINO, 2016). Estudos com modelos animais constataram que mudanças na ingestão calórica durante a gravidez e a lactação podem resultar em um maior risco de desenvolvimento de síndrome metabólica na vida adulta da prole. Neste contexto, outras alterações já foram evidenciadas, como: alteração da homeostase de glicose, aumento significativo de pressão arterial, distúrbios no perfil lipídico e problemas cardiovasculares (ARMITAGE et al., 2005).

A obesidade é caracterizada por um acúmulo excessivo de tecido adiposo e resulta em uma série de eventos que podem prejudicar a saúde do indivíduo. Esta condição é apontada como um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de síndrome metabólica, além de estar associada a alterações no sistema cardiovascular, renal e endócrino (AL-GOBLAN et al., 2014; HALL et al., 2015). A obesidade associada a outras doenças, principalmente hipertensão e diabetes (HOSSAIM et al., 2007), por estar associada ao aumento de estado de inflamação sistêmica de baixo grau, pode contribuir para lesão renal e doença cardiovascular

(KANEKO, et al. 2012). A Organização Mundial da Saúde (OMS) relata que no ano de 2014, 11% da população masculina e 15% da população feminina acima de 18 anos eram obesas e que no ano de 2013, 42 milhões de crianças com idade abaixo de 5 anos estavam em condição de sobrepeso (OMS, 2014).

Diversos modelos animais experimentais têm sido desenvolvidos com o objetivo de se estudar obesidade e síndrome metabólica. Estudos indicam que o tratamento prolongado de roedores com dieta hiperlipídica/hipercalórica pode levar a um aumento de 10-20% no peso corporal destes animais em comparação a grupos controle (BUETTNER; SCHOLMERICH & BOLLHEIMER, 2007). Alterações na ingestão calórica durante a gravidez e a lactação demonstraram resultados condizentes com estudos em humanos, pois consequências como o aumento de massa corporal, hiperinsulinemia e resistência à insulina foram observadas em modelos animais (SRINIVASAN et al., 2006a; HOLMES et al., 2015).

Estudos indicam que o rápido aumento de peso em animais experimentais pode resultar em hiperfiltração glomerular, que, em longo prazo, pode ser substituído por uma diminuição da função renal, devido à possível perda no número de nefros no decorrer do processo (HALL et al., 2014).

2. JUSTIFICATIVA

Segundo dados reportados pela OMS em 2014, a obesidade é uma grande causa de morbidade e mortalidade no mundo atual e sua prevalência tem dobrado desde a década de 80. Quando associada à gravidez e a lactação, esta condição pode trazer severas consequências ao feto, além de aumentar o risco de desenvolvimento de síndrome metabólica na vida adulta (HALL et al., 2015). Logo, estas perspectivas reforçam a necessidade de estudos que envolvam esta temática.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as repercussões renais e metabólicas da ingestão de dieta hipercalórica, contendo diferentes teores de lipídeos (28 e 40%), durante a gravidez e a lactação para a prole de ratas *Wistar*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar as repercussões da ingestão de dieta hipercalórica, com diferentes teores de lipídeos, durante a gestação e lactação para a prole de ratas *Wistar*, no que diz respeito à:

- Peso corporal e relação peso do rim/peso corporal das filhotes fêmeas de 1, 7, 30 e 90 dias de idade;
- Parâmetros morfométricos como áreas do corpúsculo renal, do tufo glomerular e espaço capsular do tecido renal das filhotes fêmeas aos 90 dias de idade;
- Níveis plasmáticos de colesterol total e triglicerídeos das filhotes fêmeas de 90 dias de idade;
- Taxa de filtração glomerular (TFG) das filhotes fêmeas de 90 dias de idade;
- Excreção urinária de albumina (EUA) apresentada pelas filhotes fêmeas de 90 dias de idade;
- Pressão Arterial Sistólica (PAS) apresentada pelas filhotes fêmeas de 90 dias de idade.

4. METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* machos, acima de 350g, e fêmeas, acima de 180g, provenientes do Centro de Bioterismo e Experimentação Animal (CBEA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os animais foram mantidos separados por sexo, em caixas com maravalha distribuídas em estantes climatizadas com temperatura controlada e ciclo claro-escuro de 12 horas, e com água e ração *ad libitum*, no depósito de animais da Área de Ciências Fisiológicas (ARFIS) do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) da UFU. O procedimento experimental foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais sob o protocolo nº 057/14 de 09 de janeiro de 2015 (ANEXO).

Os animais machos foram mantidos individualmente em suas caixas para reconhecimento de território e diariamente, ao final da tarde, as fêmeas eram colocadas nas caixas dos machos na proporção de 2 a 3 fêmeas para cada macho. No início da manhã do próximo dia foi realizado o esfregaço vaginal de cada rata para verificação de uma possível gravidez pela presença de espermatozoides no esfregaço. Uma vez grávidas, as fêmeas foram colocadas em caixas individuais e após o nascimento os filhotes foram divididos nos seguintes grupos:

Grupo 1 (Grupo Controle – Dieta Normolipídica): filhotes de 1 (n=10), 7 (n=8), 30 (n=11) e 90 (n=11) dias de idade de mães que receberam dieta comercial normolipídica (3,5% de lipídeos) durante a gestação e lactação;

Grupo 2 (Grupo Experimental 1 - Dieta Hiperlipídica): filhotes de 1 (n=6), 7 (n=7), 30 (n=7) e 90 (n=8) dias de idade de mães que receberam dieta hiperlipídica (28% de lipídeos) durante a gestação e lactação (Silva, 2016).

Grupo 3 (Grupo Experimental 2 - Dieta Hiperlipídica): filhotes de 1 (n=6), 7 (n=12), 30 (n=9) e 90 (n=14) dias de idade de mães que receberam dieta hiperlipídica (40% de lipídeos) durante a gestação e lactação.

Durante o tratamento com as respectivas dietas foram acompanhados parâmetros maternos como: consumo diário de ração, consumo calórico diário, variação de peso corporal e glicemia, verificada com auxílio de um glicosímetro ao 20º dia de gestação, através de uma gota de sangue coletada da cauda das ratas grávidas.

O consumo diário de ração pelas mães dos grupos que receberam dietas normolipídica e hiperlipídica foi acompanhado durante cinco dias, na segunda semana de gestação. Para isso, a ração foi pesada todos os dias no mesmo horário, durante os cinco dias de avaliação, sendo a

diferença da primeira e da segunda pesagem, a quantidade diária de ração ingerida pelos animais. Enquanto a avaliação da variação de peso corporal das ratas grávidas foi realizada a partir da diferença entre o peso inicial, aferido no 1º dia da gestação e o peso final, aferido no 20º dia de gestação. No período de desmame (21 dias após o nascimento), os filhotes de todos os grupos foram separados das mães e receberam a dieta comercial normolipídica.

As filhotes fêmeas de 1, 7, 30 e 90 dias de idade foram anestesiadas e tiveram seus rins coletados para a análise morfométrica e determinação da relação peso do rim/peso do corpo. No entanto, os animais de 90 dias, só tiveram seus rins retirados após a realização do Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG), a verificação da pressão arterial e as coletas de sangue e urina para as determinações de função renal, excreção de proteínas urinárias, dosagens de colesterol total e triglicerídeos.

Os rins coletados foram conservados em Metacarn por 24h, e posteriormente mantidos em álcool 70%, para fixação do tecido. Em seguida, deu-se prosseguimento para as etapas de processamento, que consiste em colocar os tecidos, em pequenas caixas, chamadas de cassetes, sendo assim identificados, desidratados em uma sequência de álcoois em ordem crescente (70% a 100%), diafanizados com imersão em Xilol (solvente orgânico, Synth) e banhados em parafina. Posteriormente, ocorreu a etapa de inclusão dos tecidos em blocos de parafina para então serem seccionados com 5µm de espessura, utilizando-se micrótomo, estendidos em lâminas de vidro, previamente gelatinizadas e mantidas em estufa, por 24h, na temperatura de 60°C, para remoção do excesso de parafina.

4.2 Composição das dietas

A ração normolipídica consistiu em ração comercial (Nuvilab) para ratos contendo por peso: 19% de proteínas, 56% de carboidratos, 3,5% de lipídeos, totalizando 17,03kJ/g.

A ração hiperlipídica 28% consistiu na adição de alimentos hipercalóricos à 48g de ração comercial (Nuvilab) na seguinte proporção: 12g de amendoim torrado, 4g de chocolate ao leite, 2g de biscoito maisena e 17g de banha de porco. Estes ingredientes foram moídos, misturados e oferecidos na forma de peletes, de modo que a composição centesimal dessa ração foi de 15,5% de proteínas, 42% de carboidratos, 28% de lipídeos, totalizando 24,18kJ/g (adaptado de DUARTE et al, 2006).

A ração hiperlipídica 40% continha os mesmos ingredientes que foram adicionados à ração 28%, mas em proporções diferenciadas. Foram adicionados a 64,65g de ração comercial (Nuvilab) 18g de amendoim torrado, 5g de chocolate ao leite, 3g de biscoito maisena e 26g de

banha de porco. Estes ingredientes foram moídos, misturados e oferecidos na forma de peletes, de modo que a composição centesimal dessa ração foi de 14% de proteínas, 35% de carboidratos e 40% de lipídeos, totalizando 34,35kJ/g.

4.3 Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG)

Um TOTG foi realizado nos animais de 90 dias nos grupos Controle e Experimental 2. Após um período de jejum de 6 horas, uma amostra de sangue foi retirada da cauda dos animais (tempo 0), que em seguida, receberam uma solução de glicose 20% via gavagem. 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).

4.4 Análise Morfométrica

As secções de tecido renal foram coradas com Azul de Toluidina para avaliações da morfometria do tecido renal. As imagens das lâminas coradas em Azul de Toluidina foram obtidas por meio de microscopia óptica digitalizada, em aumento de 10x, obtida por meio do software HL Image++ 97. Foram selecionados 20 corpúsculos renais, para análises da área do corpúsculo renal, área do tufo glomerular e área do espaço capsular.

4.5 Estudos de função renal (Taxa de filtração Glomerular - TFG) e Excreção Urinária de Proteína (EUP)

Os estudos de função renal foram feitos nos animais de 90 dias pelo *clearance* de creatinina. Os filhotes de 90 dias de idade foram colocados em gaiolas metabólicas durante 24 horas para adaptação. Em seguida, permaneceram por mais 24 horas para a coleta de urina, quando também foi coletada uma amostra de sangue. Para determinação do *clearance* de creatinina e consequentemente da TFG, a dosagem de creatinina urinária e plasmática foi feita utilizando-se método colorimétrico.

A EUP foi determinada por colorimetria nos animais de 90 dias com o auxílio do vermelho de pirogalol (Labtest). Esta substância reage com o molibdato de sódio formando um complexo que, quando combinado com a proteína em meio ácido desenvolve um cromóforo de

cor azul. A absorbância obtida pela leitura das amostras em espectrofotômetro é diretamente proporcional à concentração de proteína na amostra.

4.6 Determinação de colesterol total e triglicerídeos

O colesterol total foi determinado por método enzimático-Trinder e avaliado nos animais de 90 dias. Os ésteres de colesterol são hidrolisados pela enzima colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pela enzima colesterol oxidase a colest-4-em-ona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peroxidase e peróxido de hidrogênio, o fenol e a 4-aminoantipirina são oxidados formando a antipirlquinonimina que tem absorvidade máxima em 500nm. A intensidade da cor vermelha formada na reação final é diretamente proporcional à concentração do colesterol na amostra.

Os triglicerídeos também foram determinados por método enzimático-Trinder nos animais de 90 dias. A lipoproteína lipase promove hidrólise dos triglicerídeos liberando glicerol, que é convertido pela ação da glicerolquinase, em glicerol-3-fosfato. Este é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença de glicerolfosfato oxidase. Em seguida, ocorre uma reação de acoplamento entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, catalisada pela enzima peroxidase, produzindo uma quinoneimina que tem máximo de absorbância em 505nm. A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração de triglicerídeos na amostra.

4.7 Determinação da pressão arterial sistólica (PAS)

A PAS foi avaliada nos animais de 90 dias de idade de maneira indireta por pletismografia. Os animais foram previamente aquecidos em uma câmara durante alguns minutos e, em seguida, submetidos à mensuração da PA utilizando-se um manguito e um eletrodo, colocado diretamente na cauda desses animais. Os sinais captados foram amplificados pelo software *PowerLab (ADInstruments)* e foram convertidos pelo *LabChart 7 Pro (ADInstruments)* em valores de PA em mmHg. As medidas de PA foram realizadas durante 5 dias consecutivos, e, posteriormente foi feita a média aritmética entre as medidas obtidas em cada dia.

4.8 Análise estatística

A análise estatística foi realizada no software *GraphPad Prism Version 5.00 (Trial)*. Primeiramente foi verificado se os dados apresentavam ou não distribuição normal utilizando-se o teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Para os dados que apresentaram distribuição normal, foi utilizado como teste paramétrico o ANOVA com pós-teste de Newmann-Keuls, para que os que não apresentaram este padrão de distribuição, foi utilizado um teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

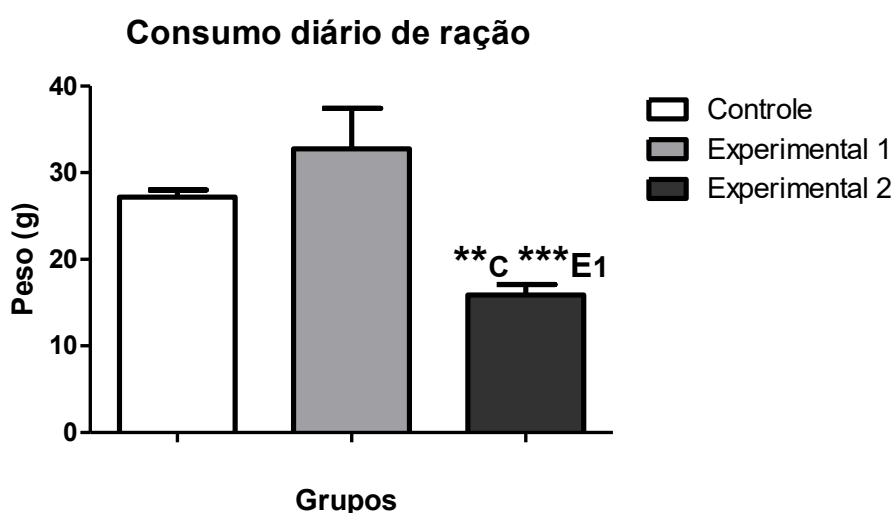
5. RESULTADOS

5.1 Dados maternos

5.1.1 Consumo diário de ração, consumo calórico diário e consumo de carboidratos, proteínas e lipídeos

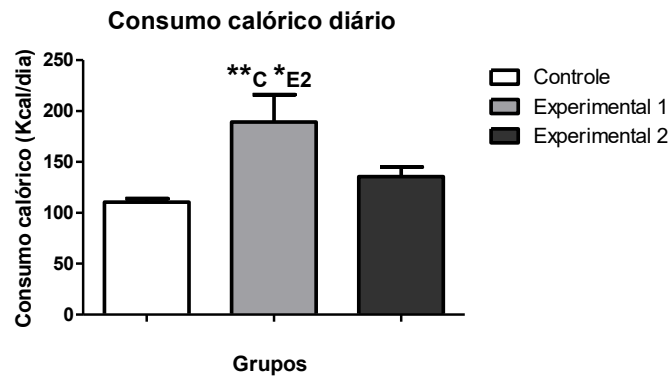
De acordo com os resultados obtidos para o consumo diário de ração, não houve diferença significativa entre os grupos Controle e Experimental 1. Entretanto, pode-se observar uma diminuição na quantidade de ração ingerida pelo grupo Experimental 2 quando comparado aos demais grupos estudados (Fig. 1). O consumo calórico diário materno foi medido a partir da quantidade de Kcal ingerida pelos animais por dia. Observou-se que o grupo Experimental 1 consumiu maior quantidade de calorias quando comparado aos outros grupos (Fig. 2). Ao se analisar separadamente o consumo de carboidratos, lipídeos e proteínas de cada um dos grupos, observou-se que a ingestão de carboidratos e proteínas foi menor no grupo Experimental 2 em relação aos demais grupos (Fig. 3A e 3C). Já a ingestão de lipídeos foi maior nos grupos experimentais quando comparados ao controle, além do grupo Experimental 1 ter ingerido mais lipídeos que o Experimental 2 (Fig. 3B).

Figura 1. Gráfico do consumo diário materno de ração.



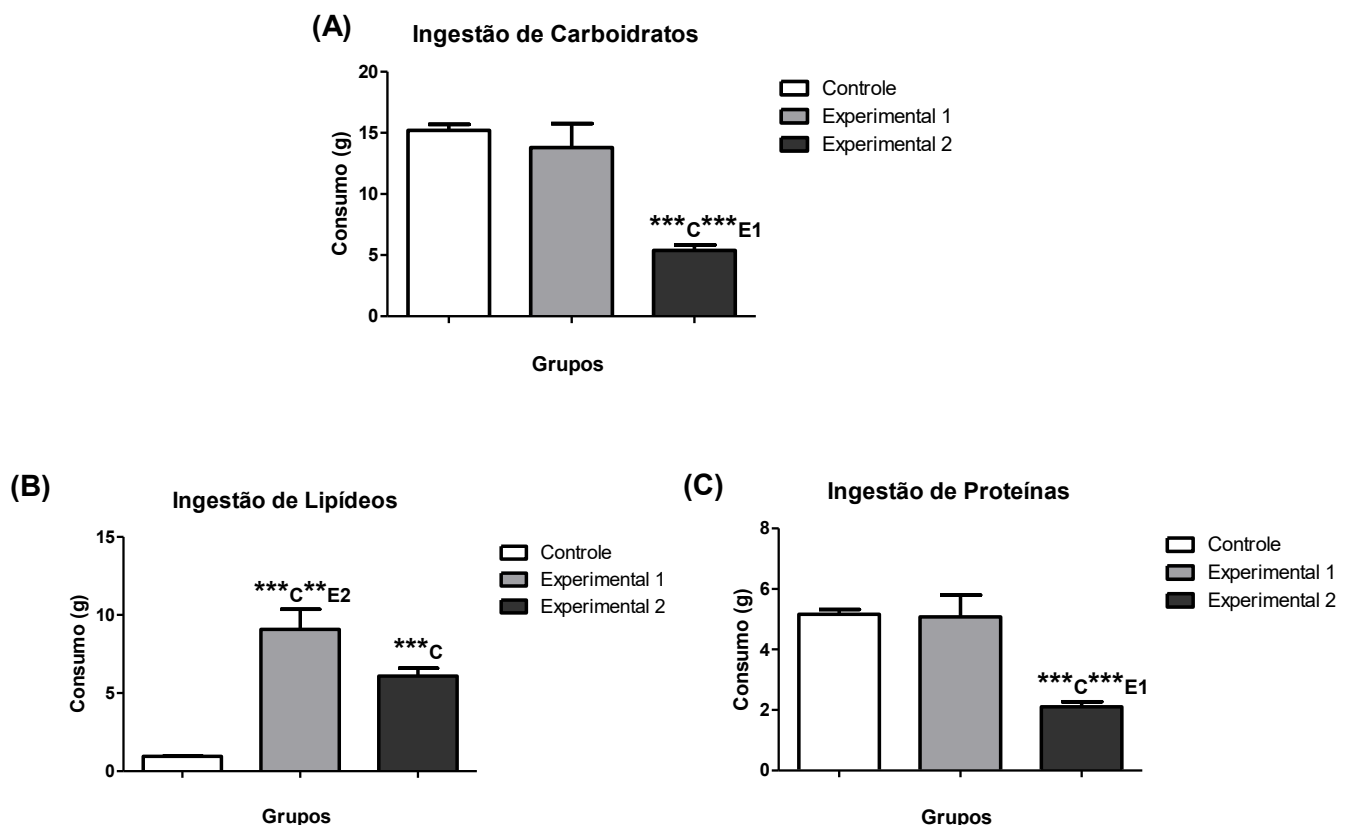
Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Consumo diário materno de ração em gramas (g) dos grupos Controle (n=7), Experimental 1 (n=6) e Experimental 2 (n=9) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. **C: $p < 0,01$ Experimental 2 versus Controle; ***E1: $p < 0,001$ Experimental 2 versus Experimental 1.

Figura 2. Gráfico do consumo calórico diário materno.

Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Consumo calórico diário materno medido em Kcal por dia dos grupos Controle (n=7), Experimental 1 (n=6) e Experimental 2 (n=9) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. **C: $p<0,01$ Experimental 1 versus Controle; *E2: $p<0,05$ Experimental 1 versus Experimental 2.

Figura 3. Gráficos do consumo diário materno de carboidratos, lipídeos e proteínas.

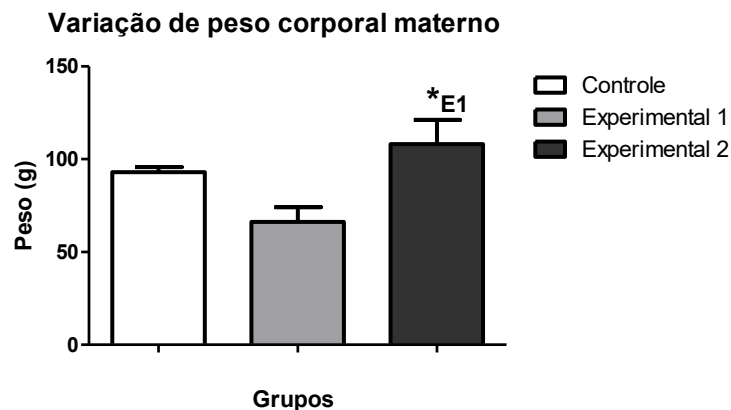
Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Consumo diário materno medido em gramas (g) por dia de carboidratos (A), lipídeos (B) e proteínas (C) dos grupos Controle (n=7), Experimental 1 (n=6) e Experimental 2 (n=9) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. Em A, ***C: $p<0,001$ Experimental 2 versus Controle; ***E1: $p<0,001$ Experimental 2 versus Experimental 1. Em B, ***C: $p<0,001$ Experimental 1 versus Controle; **E2: $p<0,01$ Experimental 1 versus Experimental 2; ***C: $p<0,001$ Experimental 2 versus Controle. Em C, ***C: $p<0,001$ Experimental 2 versus Controle; ***E1: $p<0,001$ Experimental 2 versus Experimental 1.

5.1.2 Variação de peso corporal e número de filhotes (machos e fêmeas)

Foi constatado um maior ganho de peso materno do grupo Experimental 2 durante a gestação quando comparado ao Experimental 1 (Fig. 4). E não foi observada diferença significativa entre o número de filhotes (machos e fêmeas) nascidos entre os grupos avaliados (Fig. 5).

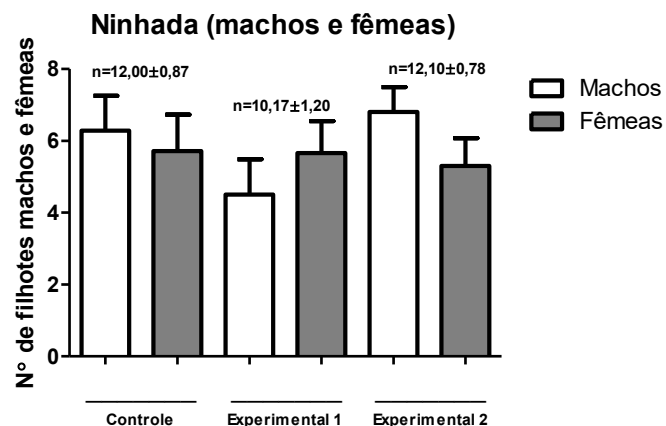
Figura 4. Gráfico da variação de peso corporal materno.



Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Variação de peso corporal materno em gramas (g) dos grupos Controle (n=7), Experimental 1 (n=6) e Experimental 2 (n=9) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. *E1: $p<0,05$ Experimental 2 versus Experimental 1.

Figura 5. Gráfico da ninhada (machos e fêmeas).



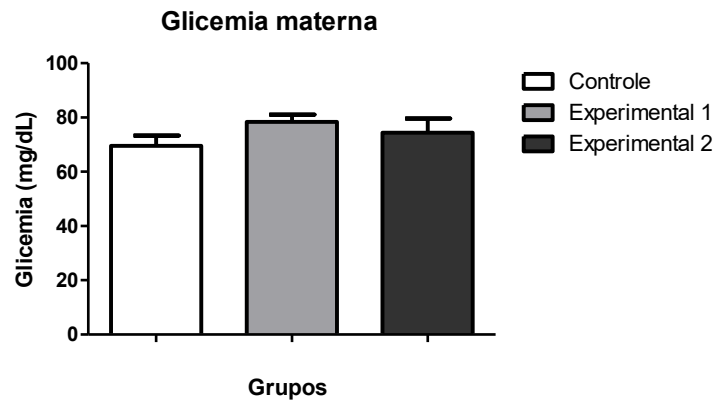
Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Ninhada de machos e fêmeas dos grupos Controle (n=7), Experimental 1 (n=6) e Experimental 2 (n=9) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$.

5.1.3 Glicemia materna

Não houve diferença significativa entre os grupos quanto aos níveis glicêmicos maternos apresentados ao 20º dia de gestação (Fig. 6).

Figura 6. Gráfico da glicemia materna.



Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

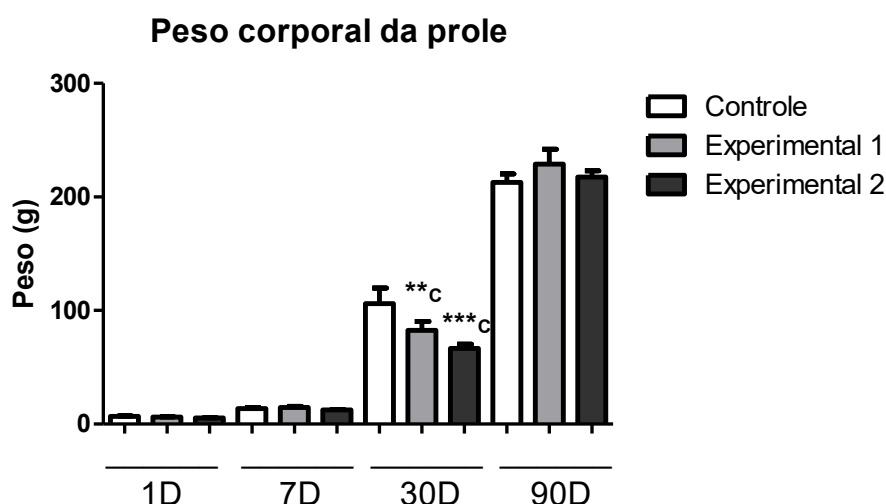
Glicemia materna no 20º dia de gestação em mg/dL dos grupos Controle (n=7), Experimental 1 (n=6) e Experimental 2 (n=9) (Teste de Newmann-Keuls). O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

5.2 Dados dos filhotes de todas as idades

5.2.1 Peso corporal da prole e relação peso do rim/peso do corpo

O peso corporal da prole foi avaliado nas idades de 1, 7, 30 e 90 dias. De acordo com o gráfico, observou-se um aumento de peso no decorrer do processo de desenvolvimento, em todos os grupos estudados. De forma, que os animais de 90 dias apresentaram maior peso corporal do que os animais mais novos. No entanto, na comparação entre os grupos na mesma idade, pode-se constatar que os filhotes de 30 dias dos grupos Experimentais 1 e 2 apresentaram menor peso corporal em relação ao grupo Controle (Fig. 7). Quanto à relação peso do rim/peso corporal, não houve diferença significativa entre os grupos estudados (Fig. 8).

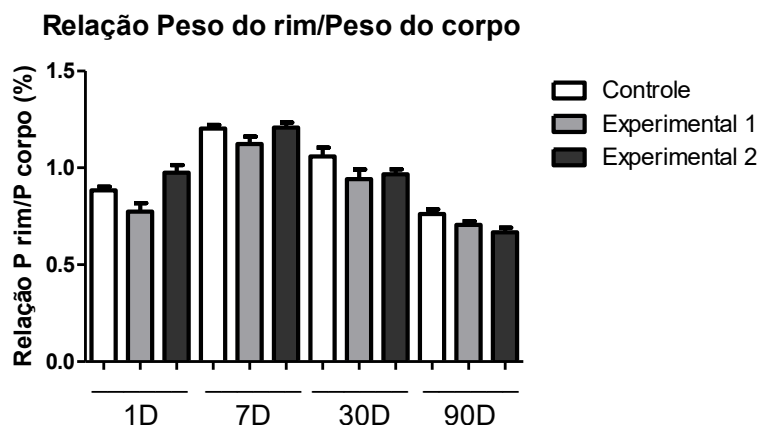
Figura 7. Gráfico do peso corporal da prole.



Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Peso corporal da prole dos filhotes de 1, 7, 30 e 90 dias de idade em gramas (g) dos grupos Controle (1D=10, 7D=8, 30D=11 e 90D=11), Experimental 1 (1D=6, 7D=7, 30D=7 e 90D=8) e Experimental 2 (1D=6, 7D=12, 30D=9 e 90D=14) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. ^{**C}: $p<0,01$ Experimental 1 versus Controle; ^{***C}: $p<0,001$ Experimental 2 versus Controle.

Figura 8. Gráfico da Relação peso do rim/peso corporal da prole.



Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

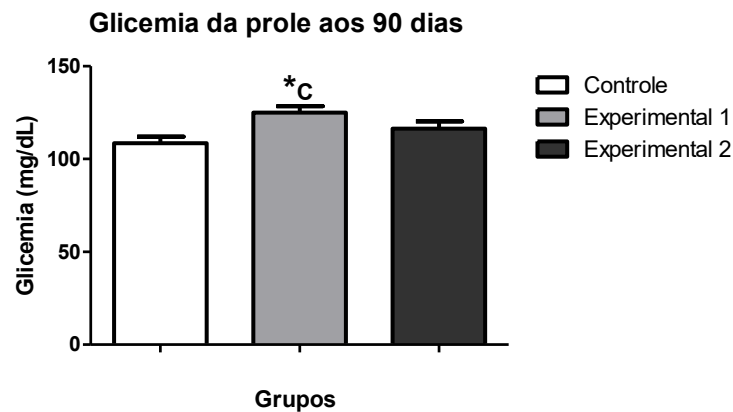
Relação peso do rim/peso corporal da prole dos filhotes de 1, 7, 30 e 90 dias em gramas (g) dos grupos Controle (1D=10, 7D= 8, 30D=11 e 90D=11), Experimental 1 (1D=6, 7D= 7, 30D=7 e 90D=8) e Experimental 2 (1D=6, 7D= 12, 30D=9 e 90D=14) (Teste de Newmann-Keuls com pós-teste de Dunn). O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

5.3 Dados dos filhotes de 90 dias

5.3.1 Glicemia da prole e Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG)

A glicemia da prole foi avaliada aos 90 dias de idade e constatou-se maiores níveis glicêmicos no grupo Experimental 1 quando comparado ao Controle. (Fig. 9). Foi realizado um TOTG comparando os grupos Controle e Experimental 2. Pode-se observar que a glicemia foi maior no grupo Experimental 2 nos tempos 0, 30 e 60 minutos, quando comparado ao controle, mostrando que o fatores tempo e tratamento interferiram na resposta (Fig. 10).

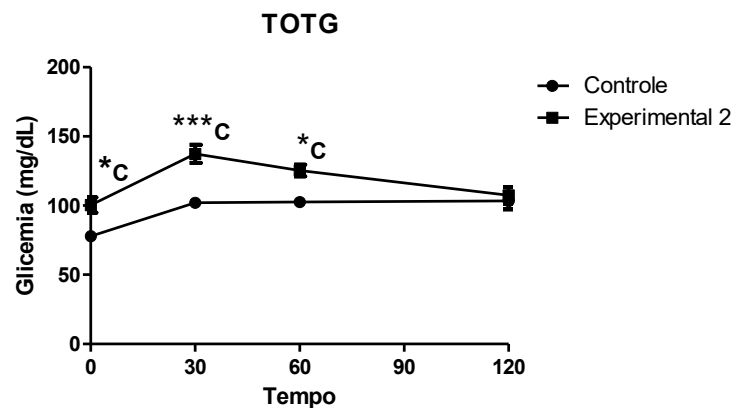
Figura 9. Gráfico da glicemia da prole de 90 dias.



Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Glicemia da prole dos filhotes de 90 dias de idade em mg/dL dos grupos Controle (n=11), Experimental 1 (n=8) e Experimental 2 (n=14) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. *C: $p<0,05$ Experimental 1 versus Controle.

Figura 10. Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG)



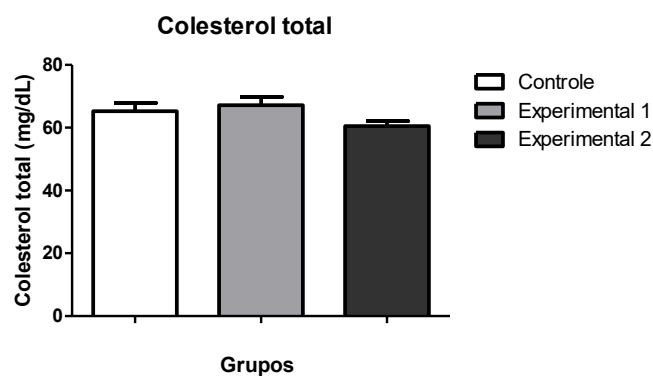
Fonte: A autora, 2017.

Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG) dos filhotes de 90 dias em mg/dL dos grupos Controle (n=6) e Experimental 2 (n=7) (ANOVA 2 Way – pós-Teste de Bonferroni). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p<0,05$. *C: $p<0,05$ Experimental 2 versus Controle no tempo 0; ***C: $p<0,001$ Experimental 2 versus Controle no tempo 30; *C: $p<0,05$ Experimental 2 versus Controle.

5.3.2 Colesterol total e triglicerídeos

Os níveis plasmáticos de colesterol total e triglicerídeos foram avaliados nos filhotes com idade de 90 dias em todos os grupos estudados. Pode-se observar que não houve diferença significativa entre os grupos (Fig. 11 e 12).

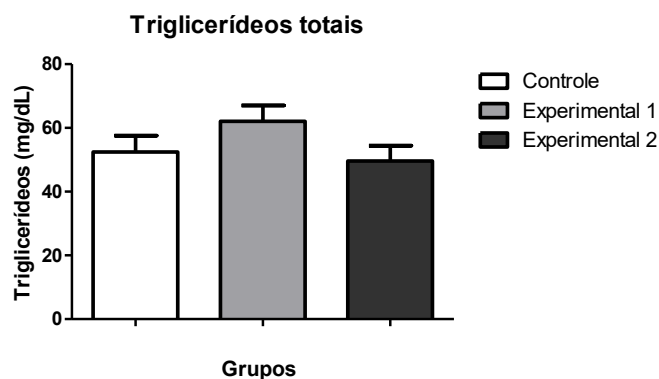
Figura 11. Gráfico do Colesterol total.



Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Colesterol total dos filhotes de 90 dias de idade em mg/dL dos grupos Controle (n=11), Experimental 1 (n=8) e Experimental 2 (n=14) (Teste de Newmann-Keuls). O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Figura 12. Gráfico de Triglicerídeos totais.



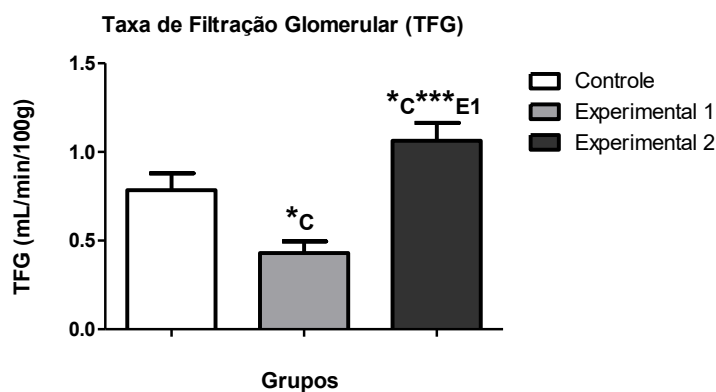
Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Triglicerídeos totais dos filhotes de 90 dias de idade em mg/dL dos grupos Controle (n=11), Experimental 1 (n=8) e Experimental 2 (n=14) (Teste de Newmann-Keuls). O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

5.3.3 Taxa de filtração glomerular (TFG)

A TFG dos animais com 90 dias de idade foi avaliada através do Clearance de Creatinina. Observou-se diminuição da TFG no grupo Experimental 1 em relação ao grupo Controle, mas um aumento significativo de TFG no grupo Experimental 2, quando comparado aos grupos Controle e Experimental 1 (Fig. 13).

Figura 13. Gráfico da Taxa de Filtração Glomerular (TFG).



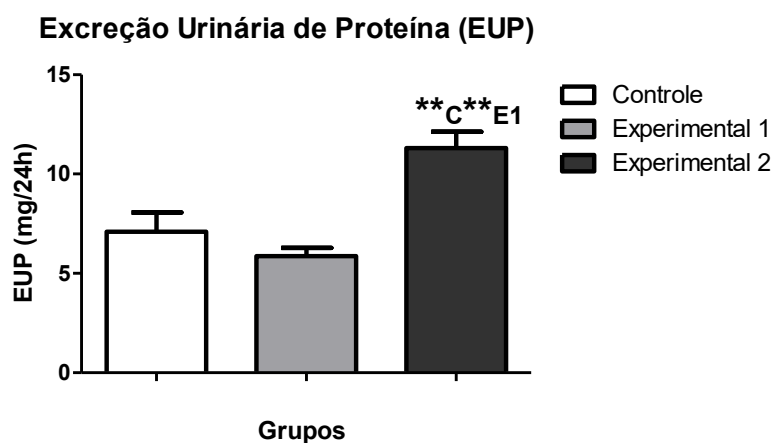
Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Taxa de Filtração Glomerular (TFG) dos filhotes de 90 dias de idade em mL/min/100g dos grupos Controle (n=11), Experimental 1 (n=8) e Experimental 2 (n=14) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. *C: $p < 0,05$ Experimental 1 versus Controle; *C: $p < 0,05$ Experimental 2 versus Controle; ***E1: $p < 0,001$ Experimental 2 versus Experimental 1.

5.3.4 Excreção urinária de proteína (EUP)

A EUP foi avaliada nos animais com idade de 90 dias e constatou-se maior perda de proteína urinária no grupo Experimental 2, em relação aos grupos Controle e Experimental 1 (Fig. 14).

Figura 14. Gráfico da Excreção Urinária de Proteína (EUP).



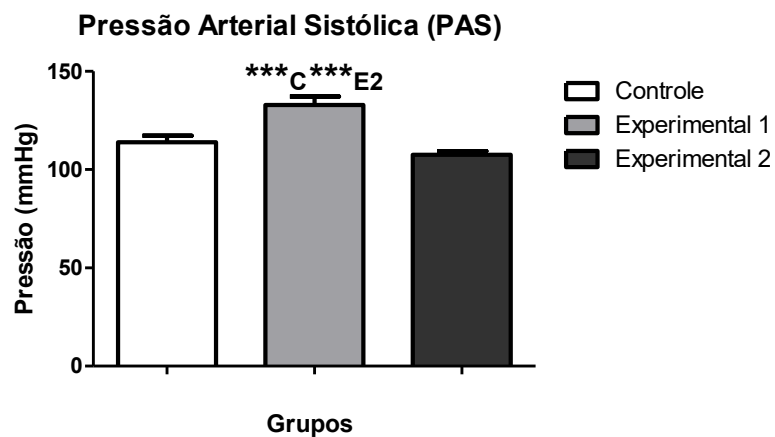
Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Excreção Urinária de Proteína (EUP) dos filhotes de 90 dias de idade em mg/24h dos grupos Controle (n=11), Experimental 1 (n=8) e Experimental 2 (n=14) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. **C: $p < 0,01$ Experimental 2 versus Controle; **E1: $p < 0,01$ Experimental 2 versus Experimental 1.

5.3.5 Pressão Arterial Sistólica (PAS)

A PAS foi avaliada através do método de pletismografia nos animais de 90 dias de idade e houve um aumento significativo deste parâmetro nos animais do grupo Experimental 1 em relação aos dos grupos Controle e Experimental 2 (Fig.15).

Figura 15. Gráfico da Pressão Arterial Sistólica (PAS).



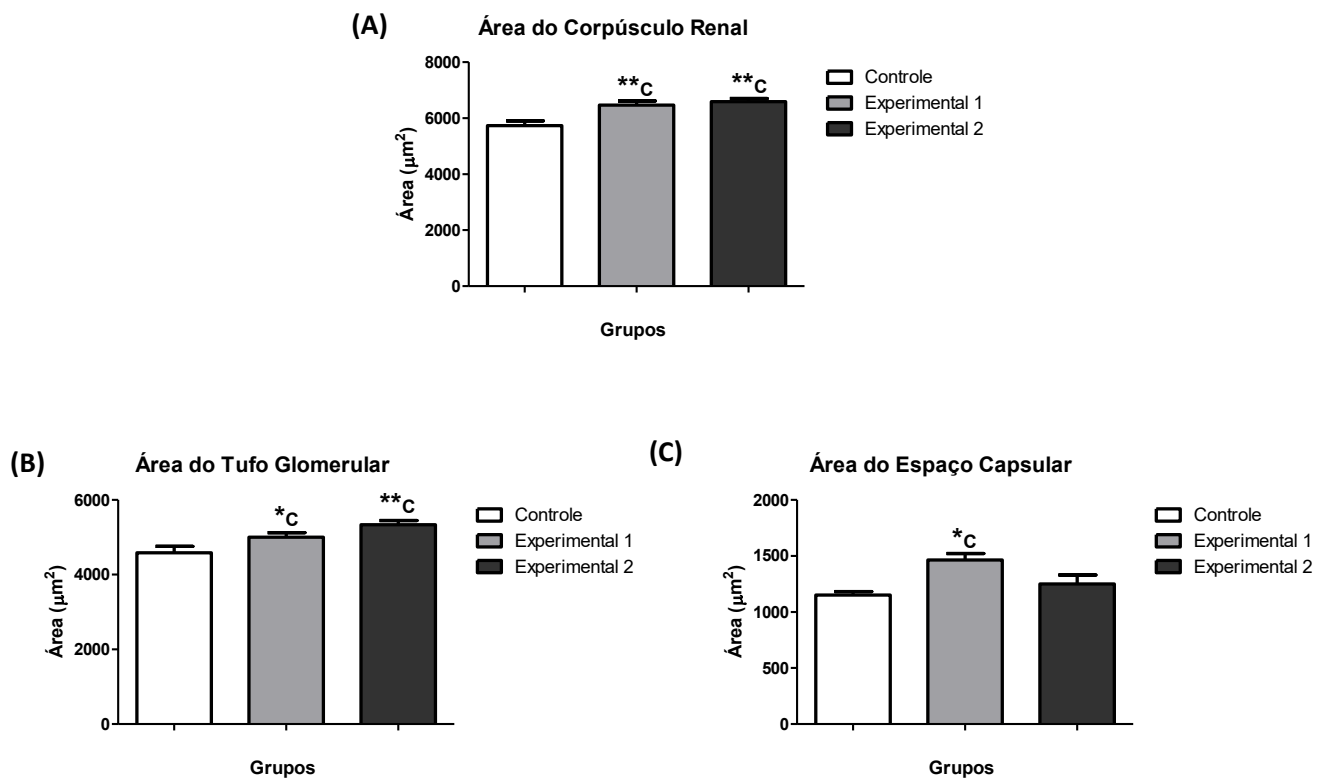
Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Pressão Arterial Sistólica (PAS) dos filhotes de 90 dias de idade em mmHg dos grupos Controle (n=11), Experimental 1 (n=8) e Experimental 2 (n=14) (Teste de Newmann-Keuls). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. ***C: $p < 0,001$ Experimental 1 versus Controle; ***E2: $p < 0,001$ Experimental 1 versus Experimental 2.

5.3.6 Análise Morfométrica: Área do Corpúsculo Renal, Área do Tufo Glomerular e Área do Espaço Capsular.

Foi observado um aumento nas áreas do corpúsculo renal e do tufo glomerular em ambos os grupos experimentais (1 e 2), quando comparados com o grupo Controle (Fig. 16A e B). Entretanto, houve um aumento da área do espaço capsular somente no grupo Experimental 1, quando comparado ao grupo Controle (Fig. 16C).

Figura 16. Graficos da Análise Morfométrica: Área do Corpúsculo Renal, Área do Tufo Glomerular e Área do Espaço Capsular.



Fonte: (SILVA, 2016; A autora, 2017).

Análise morfométrica dos filhotes de 90 dias de idade em µm² da Área do Corpúsculo Renal (A), Área do Tufo Glomerular (B) e Área do Espaço Capsular (C) dos grupos Controle (n=11), Experimental 1 (n=8) e Experimental 2 (n=14) (A e B: Teste de Newmann-Keuls; C: Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn). Os dados foram apresentados com Média±EPM. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. Em A, **C: $p < 0,01$ Experimental 1 versus Controle; **C: $p < 0,01$ Experimental 2 versus Controle. Em B, *C: $p < 0,05$ Experimental 1 versus Controle; **C: $p < 0,01$ Experimental 2 versus Controle. Em C, *C: $p < 0,05$ Experimental 1 versus Controle.

6. DISCUSSÃO

Estudos recentes da literatura têm evidenciado que alterações no ambiente intrauterino causadas por uma alimentação materna hipercalórica podem ter impactos negativos no desenvolvimento fetal. Dentre estas repercussões, estava o aumento do risco de obesidade para a prole na vida adulta (HILLIER, 2007; AINGE, 2010). Neste trabalho, buscou-se comparar os impactos causados na prole de ratas *Wistar* tratadas com dietas contendo teores diferentes de lipídeos (28 e 40%) durante a gravidez e a lactação. As respectivas dietas foram preparadas com o objetivo de mimetizar um ambiente intrauterino hostil para estes filhotes.

Quanto aos dados maternos, houve uma diminuição na quantidade de ração ingerida em gramas pelo grupo Experimental 2, em relação aos demais grupos. O consumo diário de ração em calorias foi maior apenas no grupo Experimental 1, quando comparado aos demais grupos. Analisando-se o consumo de macronutrientes separadamente, observou-se que o grupo Experimental 2 obteve menor consumo de carboidratos e proteínas, e maior consumo de lipídeos, quando comparado ao grupo controle. Porém, a quantidade de lipídeos ingerida pelo grupo Experimental 1 foi maior em relação ao grupo Experimental 2. White e colaboradores, em 2013, trataram camundongos da linhagem *Swiss* com uma dieta contendo um teor de lipídeos de 57,6% durante 10 semanas. Foi constatado que o consumo de ração em gramas do grupo que recebeu dieta hiperlipídica foi significativamente menor do que o grupo controle e não foi observada diferença entre os grupos quanto ao consumo em calorias. Em outro estudo, realizado por Townsend e colaboradores em 2008, foi reportado que o consumo de dieta rica em lipídeos pode resultar em maior ganho de peso nos animais sem que haja aumento no consumo energético. No entanto, nos estudos citados (White e colaboradores, 2013; Townsend e colaboradores, 2008) não foi analisado o consumo em separado de macronutrientes.

Carboidratos, lipídeos e proteínas são grupos de macronutrientes essenciais para o consumo energético diário médio do organismo. A dinâmica de absorção destes componentes é complexa e depende de diversos fatores. Qualquer modificação na proporção de macronutrientes pode causar alterações no ganho de peso corporal, mesmo se o conteúdo energético ingerido for constante (HALL & GUO, 2017; HALL et al., 2012). Um aumento da quantidade de lipídeos numa dieta resulta em uma maior ingestão energética. Entretanto, dietas ricas em lipídeos e pobres em carboidratos podem reduzir o apetite, promovendo aumento de corpos cetônicos circulantes. Porém, este mecanismo ainda é incerto (ROLLS et al., 2009; WILLIAMS et al., 2013; GIBSON et al., 2015; PAOLI et al., 2015). Neste trabalho, o grupo Experimental 2, pode ter reduzido o consumo em g de ração pelo fato desta dieta apresentar

maior conteúdo energético (40% de lipídeos) e a redução no consumo acabou impactando em menor ingestão de carboidratos e proteínas. Embora a obesidade materna não tenha sido observada neste trabalho, as mães do grupo Experimental 2 apresentaram maior ganho de peso durante a gestação em relação às do grupo Experimental 1. Porém, pode-se constatar que este aumento de peso não está relacionado com o número de filhotes da ninhada, visto que não observamos diferença significativa neste parâmetro entre os grupos estudados. A literatura demonstra que a obesidade pode estar relacionada ao aumento do consumo energético. E caso o consumo de ração em quantidade não esteja aumentado, pode ser que haja um aumento na densidade energética da dieta rica em lipídeos (HARIRI & THIBAUT, 2010). Os animais do grupo Experimental 2 obtiveram um menor consumo energético associado a um menor consumo em quantidade de ração, mas mesmo assim foi observado um aumento de peso nestes animais. O ganho de peso neste caso pode estar associado a mudanças epigenéticas ocorridas nestes animais durante o tratamento. Estudos demonstram que quando expostos a dietas ricas em calorias, alguns animais tornam-se obesos com facilidade, porém, em outros casos, alguns podem demonstrar-se resistentes ao ganho de peso (LEVIN et al., 2002; LEVIN et al., 2003; HARIRI & THIBAUT, 2010). A literatura sugere que os mecanismos epigenéticos estão diretamente relacionados ao estilo de vida do indivíduo, e que alterações epigenéticas podem ocorrer em qualquer momento de suas vidas (DA SILVA et al., 2016). Além disso, alguns animais possuem maior capacidade de armazenar energia, ou que seu metabolismo de oxidação de ácidos graxos seja reduzido (CHANG et al., 1990; LEVIN et al., 2000; HASSANAIN et al., 2002; JACKMAN et al., 2006; HARIRI & THIBAUT, 2010).

Com relação à glicemia, não houve diferença significativa entre os grupos estudados, embora as mães do grupo Experimental 2 tenham apresentado maior ganho de peso durante a gestação. Roza e colaboradores (2016) avaliaram os impactos renais e metabólicos causados pelo consumo de dieta hiperlipídica (60%) para ratas *Wistar* não-grávidas, durante 8 semanas. O estudo não constatou aumento de peso corporal no grupo tratado com dieta hiperlipídica e o consumo de ração foi significativamente menor neste grupo, quando comparado ao grupo controle. Entretanto, as ratas tratadas com dieta rica em calorias mostraram-se hiperglicêmicas em relação ao grupo controle. Possivelmente, o maior tempo de tratamento utilizado nos estudos de Roza e colaboradores, apesar de não se tratar de ratas grávidas, associado a um maior teor de lipídeos na dieta pode ter influenciado a alteração de glicemia, que não foi observada neste trabalho.

De acordo com dados da literatura, a alta ingestão calórica materna está comumente associada a um aumento no peso corporal da prole ao nascimento e até nos primeiros dias de

vida. Esses resultados foram encontrados em modelos animais tratados com dieta hiperlipídica também no período pré-gestacional (SRINIVASAN et al., 2006b; JONES et al., 2009; NIVOIT et al., 2009). Neste trabalho, o peso corporal da prole avaliado em todos os grupos estudados nas diferentes idades (1, 7, 30 e 90 dias) aumentou no decorrer do período analisado. No entanto, os filhotes de 30 dias dos grupos hiperlipídicos (Experimental 1 e 2) apresentaram menor peso corporal quando comparados ao grupo controle, apesar do consumo calórico materno ter sido maior no grupo Experimental 1 e o ganho de peso materno maior no Experimental 2. Em relação aos dados glicêmicos dos filhotes adultos, constatou-se um aumento da glicemia no grupo Experimental 1, em comparação aos demais grupos. Resultados semelhantes com relação à glicemia foram encontrados no trabalho de Hokke (2016), em que fêmeas de camundongos da linhagem C57Bl6 foram tratadas com dieta hiperlipídica (21%) durante 6 semanas antes da gestação e também durante todo o período gestacional/lactação. O peso corporal dos filhotes do grupo hiperlipídico e controle foram semelhantes durante os primeiros dias de vida, enquanto os filhotes adultos do grupo hiperlipídico apresentaram um leve aumento nos níveis glicêmicos e seus pesos corporais não apresentaram alteração, quando comparados ao grupo controle. A alteração de glicemia relatada por Hokke (2016) e também neste trabalho pode estar relacionada à exposição dos filhotes a um ambiente intrauterino hostil causado pelo alto consumo calórico materno. Já as diferenças no que diz respeito ao peso corporal talvez possa ser explicada pela diferença no teor de lipídeos contidos nas dietas, às espécies utilizadas para os estudos e a forma como as mesmas respondem ao aumento da oferta lipídica.

Foi realizado um Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG) nos animais adultos dos grupos Controle e Experimental 2 a fim de se investigar possíveis alterações glicêmicas após sobrecarga de glicose. O teste mostrou aumento da glicemia nos tempos 0 (jejum), 30 e 60 minutos pós-sobrecarga de glicose no grupo Experimental 2 em comparação ao controle. Estes resultados corroboram os estudos de White e colaboradores (2013), que realizaram um TOTG com administração intraperitoneal (i.p.) de uma solução de glicose (50%), em camundongos tratados com dieta hiperlipídica durante 8 semanas. Foram observadas alterações tanto na curva do TOTG, quanto na glicemia de jejum do grupo tratado com dieta rica em calorias. Cerf e colaboradores (2005) avaliaram as repercussões no perfil glicêmico e nas ilhotas pancreáticas de filhotes de ratas *Wistar* tratadas com dieta hiperlipídica contendo 40% de lipídeos durante diferentes estágios da gestação. Os filhotes de mães tratadas com a dieta hiperlipídica durante todo o período gestacional apresentaram-se hiperglicêmicos e com redução de número e volume das células β -pancreáticas produtoras de insulina.

A obesidade está associada a quadros de dislipidemia e alterações na homeostase de glicose no organismo (HIGDON et al., 2003; BONEY et al., 2005). Neste trabalho, não se observou alteração nos níveis plasmáticos de colesterol total e triglicerídeos nos filhotes de 90 dias dos grupos avaliados. Em contraste, Boanane e colaboradores (2010) observaram alterações no perfil lipídico de filhotes adultos com 12 semanas de idade de ratas *Wistar* tratadas com dieta rica em lipídeos (42%) durante a gravidez e a lactação. É possível que em modelos de programming fetal que utilizam dieta hiperlipídica e dependendo do teor de lipídeos presentes na ração, as alterações de perfil lipídico se manifestem mais tardiamente na vida adulta da prole.

Estudos evidenciam que a obesidade pode causar alterações hemodinâmicas intraglomerulares, levando a um aumento do fluxo plasmático renal e da TFG (hiperfiltração glomerular), que, consequentemente, podem acarretar em quadros de albuminúria (REISIN et al., 1987; CHAGNAC et al., 2000; WHALE-CORNELL & SOWERS, 2017). Neste trabalho, os filhotes adultos do grupo Experimental 1 apresentaram uma menor TFG em relação ao grupo controle. Em contraste, o grupo Experimental 2 demonstrou maiores valores de TFG em relação aos demais grupos, revelando um quadro de hiperfiltração glomerular. Este mesmo grupo apresentou aumento de EUP, quando comparado aos grupos Controle e Experimental 1. Jackson e colaboradores (2011) avaliaram parâmetros metabólicos e renais dos filhotes de ratas *Sprague-Dawley* tratadas com dieta hiperlipídica (45%) e rica em frutose (0,1 g/mL) durante 6 meses, antes da gravidez e também durante a gestação e lactação. Os filhotes adultos destas mães tratados com dieta normolipídica após o desmame, desenvolveram albuminúria e glomeruloesclerose. Entretanto, estes animais não demonstraram alterações significativas na TFG. Isto sugere que os quadros albuminúria e glomeruloesclerose encontrados nestes filhotes possam ser independentes de alterações hemodinâmicas renais. Porém, com o avanço da idade, mudanças na TFG poderiam ser encontradas, assim como nos grupos experimentais do presente estudo. A hiperfiltração glomerular observada no grupo Experimental 2 está diretamente relacionada ao aumento da EUP e pode ser resultante do aumento da área disponível para filtração caracterizada pelo aumento do tufo glomerular também observada neste grupo. No entanto, a diminuição da TFG do grupo Experimental 1 pode estar associada ao aumento de PAS observada neste trabalho.

Vale ressaltar ainda que as mães do grupo Experimental 2 ingeriram menor conteúdo proteico e de carboidratos em relação aos demais grupos. Estudos demonstraram que dietas maternas contendo baixa quantidade de proteínas podem causar impactos negativos nos filhotes na vida adulta, como diminuição do número de nefros e hipertensão (MERLET-BENICHO, 2011).

1994; LANGLE-EVANS, 1999). Nwagwu e colaboradores (2000) avaliaram os efeitos renais e metabólicos de filhotes de ratas *Wistar* tratadas com dieta contendo baixa quantidade de proteínas durante a gravidez. Os filhotes de 4 semanas de idade apresentaram aumento de PA, diminuição na TFG e aumento de excreção urinária de albumina. Neste trabalho, o quadro de microalbuminúria também foi observado nos filhotes adultos do grupo Experimental 2, mas associado ao aumento de TFG. Esses resultados podem ser explicados pela associação entre menores conteúdos proteico e glicídico, mas aumentado teor lipídico ingeridos pelas mães deste grupo, mostrando que mudanças na relação adequada entre os macronutrientes presentes na dieta podem ter efeitos renais prejudiciais para a prole.

Com relação à análise morfométrica foram avaliados os seguintes parâmetros: área do corpúsculo renal, área do tufo glomerular e a área do espaço capsular. Foi constatado um aumento tanto da área do corpúsculo renal, quanto da área do tufo glomerular nos grupos que receberam as dietas hiperlipídica/hipercalórica de 28 e 40%. Quanto ao espaço capsular, foi encontrado aumento de sua área somente no grupo Experimental 1, quando comparado aos demais grupos. Tobar e colaboradores (2013) avaliaram aspectos morfológicos de biópsias renais de pacientes obesos não diabéticos que possuíam quadros de proteinúria e hiperfiltração glomerular. O estudo constatou um aumento do volume do tufo glomerular e um aumento do espaço capsular nestes indivíduos, quando comparados ao grupo controle. Estes dados, juntamente com outros estudos encontrados na literatura, reforçam uma relação entre glomerulomegalia e hiperfiltração glomerular (COHEN, 1975; KAMBHAM et al.; REA et al., 2006; GOUMENOS et al., 2009; HOY et al., 2010).

Quanto aos resultados de PAS, os animais do grupo Experimental 1 apresentaram maiores valores pressóricos quando comparado aos demais grupos. De acordo com a literatura, esperava-se que o grupo tratado com dieta hiperlipídica com maior teor de lipídeos (40%) também desenvolvesse alterações significativas de PAS. Estudos que utilizaram tratamento com dieta hiperlipídica por 6 semanas durante o período pré-gestacional, e também na gravidez e lactação, constataram quadros de hipertensão nos filhotes adultos, assim como dislipidemia e resistência à insulina (KHAN et al., 2003; TAYLOR et al., 2004). No entanto, a divergência encontrada nestes resultados pode estar relacionada com a redução da TFG encontrada no grupo Experimental 1, alteração que não foi registrada no grupo Experimental 2.

7. CONCLUSÃO

O consumo materno de dieta hiperlipídica *per se*, durante a gestação e amamentação, resultou em alterações renais e metabólicas importantes para a prole de ratas *Wistar*, como aumento de glicemia, mudanças na estrutura e função renal e aumento da EUP e da PAS. No entanto, o teor de lipídeos (28 ou 40%) repercutiu de forma diferente no tipo e/ou magnitude da alteração registrada na prole.

8. REFERÊNCIAS

- AINGE, H.; THOMPSON, C.; OZANNE, S. E.; ROONEY, K. B. A systematic review on animal models of maternal high fat feeding and offspring glycaemic control. **International Journal of Obesity**, v. 35, p. 325-335, 2010.
- AL-GOBLAN, A. S.; AL-ALFI, M. A.; KHAN, M. Z. Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy**, v. 7, p. 587, 2014.
- AMRI, K.; FREUND, N.; VILAR, J.; MERLET-BENICHO, C.; LELIEVRE-PEGORIER, M. Adverse effects of hyperglycemia on kidney development in rats: in vivo and in vitro studies. **Diabetes**, v. 48, n. 11, p. 2240-2245, 1999.
- ARMITAGE, J. A.; LAKASING, L.; TAYLOR, P. D.; BALACHANDRAN, A. A.; JENSEN, R. I.; DEKOU, V.; ASHTON, N.; NYENGAARD, J. R.; POSTON, L. Developmental programming of aortic and renal structure in offspring of rats fed fat-rich diets in pregnancy. **Journal of Physiology**, p. 171-184, 2005.
- BITSORI, M. The development of renal function. **Essentials in Pediatric Urology**, p. 9-20, 2012.
- BONEY, C. M.; VERMA, A.; TUCKER, R.; VOHR, B.R. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. **Pediatrics**, v. 115, p. 290-296, 2005.
- BOTWINSKI, C. A.; FALCO, G. A. Transition to postnatal renal function. **Journal of Neonatal and Perinatal Nursing**, v. 28, n. 2, p. 150-154, 2014.
- BOUANANE, S.; MERZOUK, H.; BENKALFAT, N. B.; SOULIMANE, N.; MERZOUK, S. A.; GRETI, J.; TESSIER, C.; NARCE, M. Hepatic and very low density lipoprotein fatty acids in obese offspring of overfed dams. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 59, p. 1701-1709, 2010.
- BUETTNER, R.; SCHÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity**, v. 15, p. 798-808, 2007.
- CERF, M. E.; WILLIAMS, K.; NKOMO, X. I.; MULLER, C. J.; DU TOIT, D. F.; LOUW, J.; WOLFE-COOTE, S. A. Islet cell response in the neonatal rat after exposure to a high-fat diet during pregnancy. **American Journal of Physiology**, v. 288, p. 1122-1128, 2005.
- CHAGNAC, A.; WEINSTEIN, T.; KORZETS, A. Glomerular hemodynamics in severe obesity. **American Journal of Renal Physiology**, v. 278, p. 817-822, 2000.
- CHANG, S.; GRAHAM, B.; YAKUBU, F. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. **American Journal of Physiology**, p. 1103-1110, 1990.
- COHEN, A. H. Massive obesity and the kidney. A morphologic and statistic study. **American Journal of Pathology**, v. 81, p. 117-130, 1975.
- CORREIA-SANTOS, A. M.; SUZUKI, A.; ANJOS, J. S.; RÊGO, T. S.; ALMEIDA, K. C.; BOAVENTURA, G. T. Indução de diabetes tipo 2 por dieta hiperlipídica e baixa dose de Estreptozotocina em ratas *Wistar*. **Revista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP)**, v. 45, p. 436-444, 2012.

DA SILVA, L. N.; JOAQUIM, J. L.; MENDES, S. J.; RUIZ, A.; SOUZA, F. A.; MIYAMOTO, C. A. Mecanismos epigenéticos. **Conexão Eletrônica**, v. 13, 2016.

DUARTE, A. C. G. O.; FONSECA, D. F.; MANZONI, M. S. J.; SOAVE, C. F.; SENE-FIORESE, M.; DÂMASO, A. R.; CHEIK, N. C. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 19, p. 341-348, 2006.

GIBSON, A. A.; SEIMON, R. V.; LEE, C. M. Do ketogenic diets really suppress appetite? A systematic review and meta-analysis. **Obesity Reviews**, v. 16, p. 64-76, 2015.

GOUMENOS, D. S.; KAWAR, B.; NAHAS, M. E.; CONTI, S.; WAGNER, B.; SPYROPOULOS, C.; VLACHOJANNIS, J. G.; BENIGNI, A.; KALFARENTZOS, F. Early histological changes in the kidney of people with morbid obesity. **Nephrology, Dialysis, Transplantation – Journals**, v. 24, p. 3732-3738, 2009.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. The thrifty phenotype hypothesis. **British Medical Bulletin**, v. 60, p. 5-20, 2001.

HALL, K. D.; GUO, J. Obesity energetics: body weight regulation and the effects of diet composition. **Gastroenterology**, v. 152, p. 1718-1727, 2017.

HALL, K. D.; HEYMSFIELD, S. B.; KEMNITZ, J. W.; KLEIN, S.; SCHOELLER, D. A.; SPEAKMAN, J. R. Energy balance and its components: implications for body weight regulation. **American Society of Nutrition**, v. 95, p. 989-994, 2012.

HALL, M. E.; CARMO, J. M.; SILVA, A. A.; JUNCOS, L. A.; WANG, Z.; HALL, J. E. Obesity, hypertension and chronic kidney disease. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, v. 7, p. 75-88, 2014.

HALL, M. E.; CARMO, J. M.; SILVA, A. A.; WANG, Z.; HALL, J. E. Obesity-induced hypertension. **Circulation Research**, p. 991-1007, 2015.

HARIRI, N.; THIBAULT, L. High-fat induced obesity in animals. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, p. 270-299, 2010.

HASSANAIN, M.; LEVIN, B. E. Dysregulation of hypothalamic serotonin turnover in diet-induced obese rats. **American Journal of Physiology**, v. 929, p. 175-180, 2002.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, p. 365-367, 2003.

HILLIER, T. A.; PEDULLA, K. L.; SCHMIDT, M. M.; MULLEN, J. A.; CHARLES, M. A.; PETTIT, D. J. Childhood obesity and metabolic imprinting – The ongoing effects of maternal hyperglycemia. **Diabetes Care**, v. 30, p. 2287-2292, 2007.

HOKKE, S.; PUELLES, V. G.; ARMITAGE, J. A.; FONG, K.; BERTRAM, J. F.; CULLEN-MCEWEN, L. A. Maternal fat feeding augments offspring nephron endowment in mice. **Plos One**, p. 1-19, 2016.

HOLMES, A.; COPPEY, L. J.; DAVIDSON, E. P.; YOREK, M. A. Rat models of diet-induced obesity and high-fat/low dose Streptozotocin type 2 diabetes: Effect of reversal high-fat diet compared to treatment with Enalapril or Menhaden Oil on glucose utilization and neuropathic endpoints. **Journal of Diabetes Research**, p. 1-8, 2015.

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

HOY, W. E.; HUGHSON, M. D.; ZIMANYI, M.; SAMUEL, T.; DOUGLAS-DENTON R.; HOLDEN, L.; MOTT, S.; BERTRAM, J. F. Distribution of volumes of individual glomeruli in kidneys at autopsy: association with age, nephron number and body mass index. **Clinical Nephrology**, v. 74, p. 105-112, 2010.

JACKMAN, M. R.; KRAMER, R. E.; MACLEAN, P. S. Trafficking of dietary fat in obesity-prone and obesity-resistant rats. **American Journal of Physiology**, v. 291, p. 1083-1091, 2006.

JACKSON, C. M.; ALEXANDER, B. T.; ROACH, L.; HAGGERTY, D.; MARBURY, D. C.; HUTCHENS, Z. M.; FLYNN, E. R.; MARIC-BILKAN, C. Exposure to maternal overnutrition and a high-fat diet during early postnatal development increases susceptibility to renal and metabolic injury later in life. **American Journal of Renal Physiology**, v. 302, p. 774-783, 2012.

JONES, H. N.; WOOLLETT, L. A.; BARBOUR, N.; PRASAD, P. D.; POWELL, T. L.; JANSSON, T. High-fat diet before and during pregnancy causes marked up-regulation of placental nutrient transport and fetal overgrowth in C57/ BL6 mice. **The FASEB Journal**, v. 23, p. 271-278, 2009.

KANEKO, K.; KIMATA, T.; TSUJI, S.; SHIRAISHI, K.; YAMAUCHI, K.; MURAKAMI, M.; KITAGAWA, T. Impact of obesity on childhood kidney. **Pediatric Reports**, v. 3, 2011.

KHAMBHAM, N.; MARKOWITZ, G. S.; VALERI, A. M. Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. **Kidney International**, v. 59, p. 1498-1509, 2006.

KHAN, I. Y.; TAYLOR, P. D.; DEKOU, V.; LAKASING, L.; GRAHAM, D. Gender-linked hypertension in offspring of lard-fed pregnant rats. **Hypertension**, v. 41, p. 168-175, 2003.

LANGLEY-EVANS, S. C. Nutrition in early life and the programming of adult disease: a review. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, p. 1-14, 2014.

LANGLEY-EVANS, S. C.; WELHAM, S. J.; JACKSON, A. A. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. **Life Sciences**, v. 11, p. 965-974, 1999.

LEVIN, B. E.; DUNN-MEYNELL, A. A. Reduced central leptin sensitivity in rats diet-induced obesity. **American Journal of Physiology**, v. 283, p. 941-948, 2002.

LEVIN, B. E.; DUNN-MEYNELL, A. A.; RICCI, M. R. Abnormalities of leptin and ghrelin regulation in obesity prone juvenile rats. **American Journal of Physiology**, v. 285, p. 949-957, 2003.

LEVIN, B. E.; RICHARD, D.; MICHEL, C. Differential stress responsivity in diet-induced obese and resistant rats. **American Journal of Physiology**, p. 1357-1364, 2000.

MERLET-BÉNICHOU, C.; GILBERT, T.; LELIÉVRE, M.; LEROY, B. Intrauterine growth retardation leads to a permanent nephron deficit in the rat. **Pediatric Nephrology**, v. 2, p. 175-180, 1994.

NEHIRI, T. et al. Exposure to maternal diabetes induces salt-sensitive hypertension and impairs renal function in adult rat offspring. **Diabetes**, v. 57, n. 8, p. 2167-2175, 2008.

NIGAM, S. K.; APERIA, A. C.; BRENNER, B. M. Development and maturation of the kidney. **The kidney**, p. 72-98, 1996.

NIVOIT, P.; MORENS, C.; VAN ASSCHE, F. A.; JANSEN, E.; POSTON, L.; REMACLE, C. Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. **Diabetologia**, v. 52, p.1133-1142, 2009.

NWAGWU, N. O.; COOK, A.; LANGLEY-EVANS, S. Evidence of progressive deterioration of renal function in rats exposed to a maternal protein-low diet in utero. **British Journal of Nutrition**, v. 83, p. 79-85, 2000.

OMS (Organização Mundial da Saúde). **Global status report on noncommunicable diseases**, 2014.

PAOLI, A.; BOSCO, G.; CAMPORESI, E. M. Ketosis, ketogenic diet and food intake control: a complex relationship. **Frontiers in Psychology**, p. 6-27, 2015.

PARRINO, C.; VINCIGUERRA, F.; LA SPINA, N.; ROMEO, L.; TUMMINIA, A.; BARATTA, R.; SQUATRITO, S.; VIGNERI, R.; FRITTITTA, L. Influence of early-life and parental factors on childhood overweight and obesity. **Journal of Endocrinology Investigation**, v. 39, p. 1315-1321, 2016.

REA, D. J.; HEIMBACH, J. K.; GRANDE P. J. Glomerular volume and renal histology in obese and non-obese living kidney donors. **Kidney International**, v. 70, p. 1636-1641, 2006.

REEVES, W.; CAULFIELD, J. P.; FARQUHAR, M. G. Differentiation of epithelial foot processes and filtration slits: sequential appearance of occluding junctions, epithelial polyanion, and slit membranes in developing glomeruli. **Laboratory Investigation**, v. 39, p. 90-100, 1978.

REISIN, E.; MESSERLI, FG.; VENTURA, H. O.; FROHLICH, E. D. Renal hemodynamic studies in obesity hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 5, p. 397-400, 1987.

ROLLS, B. J. The relationship between dietary energy density and energy intake. **Physiology & Behavior**, v. 97, p. 609-615, 2009.

ROZA, N. A. V.; POSSIGNOLO, L. F.; PALANCH, A. C.; GONTIJO, J. A. R. Effect on long-term high-fat diet intake on peripheral insulin sensibility, blood pressure and renal function on female rats. **Food and Nutrition**, v. 60, 2016.

SRINIVASAN, K. et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. **Pharmacological research**, v. 52, n. 4, p. 313-320, 2006a.

SRINIVASAN, M.; KATEWA, S. D.; PALANIYAPPAN, A.; PANDYA, J. D.; PATEL, M. S. Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. **American Journal of Physiology**, v. 291, p. 792-799, 2006b.

TAYLOR, P. D.; KHAN, I. Y.; HANSON, M. A.; POSTON, L. Impaired EDHF-mediated vasodilatation in adult offspring of rats exposed to a fat-rich diet in pregnancy. **Journal of Physiology**, v. 558, p. 943-951, 2004.

TOBAR, A.; ORI, Y.; BENCHETRIT, S.; MILO, G.; HERMAN-ELDSTEIN, M.; ZINGERMAN, B.; LEV, N.; GAFTER, U.; CHAGNAC, A. Proximal tubular hypertrophy and enlarged glomerular and proximal tubular urinary space in obese subjects with proteinuria. **Plos One**, v. 8, 2013.

TOWSEND, L. K.; LORENZI, M. M.; WIDMAIER, E. P. High-fat diet-induced changes in body mass and hypothalamic gene expression in wild-type and leptin-deficient mice. **Endocrinology**, v. 33, p. 176-188, 2008.

WHALE-CORNELL, A.; SOWERS, J. R. Obesity and kidney disease: from population to basic science and the search for new therapeutic targets. **Kidney International**, 2017.

WHITE, P. A. S.; CERCATO, L. M.; ARAÚJO, J. M. D.; SOUZA, L. A.; SOARES, A. F.; BARBOSA, A. P. O.; NETO, J. M. R.; MARÇAL, A. C.; MACHADO, U. F.; CAMARGO, E. A.; SANTOS, M. R.; BRITO, L. C. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência á ação da insulina e intolerância à glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 57, p. 339-345, 2013.

WILLIAMS, R. A.; ROE, L. S.; ROLLS, B. J. Comparison of three methods to reduce energy density. Effects on daily energy intake. **Appetite**, v. 66, p. 75-83, 2013.

9. ANEXO



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



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo para uso de animais em experimentação nº 057/14, sobre o projeto de pesquisa intitulado “Impactos renais das obesidades pré-gestacional e gestacional para a prole de ratos Wistar”, sob a responsabilidade da **Profª. Drª. Ana Paula Coelho Balbi** está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal conforme regulamentações do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) – UFU em reunião de **09 de janeiro de 2015**.

(We certify that the protocol nº 057/14, about “Impactos renais das obesidades pré-gestacional e gestacional para a prole de ratos Wistar” agrees with the ETHICAL PRINCIPLES ON ANIMAL RESEARCH as regulations of National Advice of Control and Animal Experimentation (CONCEA) and approved by Ethics Commission on Use of Animals (CEUA) – Federal University of Uberlândia in 09/01/2015).

Uberlândia, 16 de janeiro de 2015.

Prof. Dr. César Augusto Garcia
Coordenador da CEUA/UFU