



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

Influência da restrição calórica materna moderada sobre o metabolismo energético em ratos Wistar

Thiago Shigueo Teruya

Prof^a. Dr^a. Denise Rangel da Silva Sartori

Monografia apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biomédicas.

BOTUCATU - SP
2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**Influência da restrição calórica materna moderada sobre o metabolismo
energético em ratos Wistar**

Thiago Shigueo Teruya

Orientadora: Profa. Dra. Denise Rangel da Silva Sartori

BOTUCATU - SP
Dezembro – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Teruya, Thiago.

Influência da restrição calórica materna moderada sobre o metabolismo energético em ratos Wistar / Thiago Teruya. - Botucatu, 2013

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biomédicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Denise Rangel da Silva Sartori

Capes: 20701004

1. Metabolismo energético. 2. Restrição calórica. 3. Gravidez - Aspectos nutricionais. 4. Ratos Wistar. 5. Animais de laboratório.

Palavras-chave: Metabolismo; Programação fetal; Restrição calórica.

*"All the world's for living when love is what you find
Despair and loneliness you've got to leave them far behind
Tell the clouds to go let the feeling show
It's great when life is full of living*

...

*Life is meant to share and it means the same thing everywhere
Living everyday, helping people on their way
Cause sometimes life gives everyone some doubts*

...

*All the world's forgetting the hate that filled our hearts
The times of selfish reasoning that keeps all apart
This world was meant to share, let them know you care
By making someone's life worth living"*

All the world - Kansas

Dedico

A Deus que me concedeu a oportunidade de aprender e crescer cada vez mais durante este trabalho.

A cada um dos animais que fizeram parte deste trabalho, pois sem cada um deles não teria sido possível a sua realização.

Ofereço

Aos meus pais Paulo e Teolides que me ensinaram a sonhar e a viver caminhando para torná-los realidade. A todos os meus familiares amigos e professores que acompanharam a minha caminhada até aqui.

Agradecimento Especial

À profa. Denise Rangel da Silva Sartori.

Agradeço a professora por tudo que me ensinou durante esse ano e por ter sido mais do que professora e orientadora, mas também incentivadora e amiga.
Meu sincero agradecimento.

Agradecimentos

Aos servidores do departamento de Fisiologia-IBB/UNESP-Botucatu por toda a sua ajuda em todas as fases do experimento e análises, me auxiliando em todos os momentos de dificuldades e que necessitei de ajuda para a execução dos trabalhos e também me incentivando.

À Renata Capela do Laboratório Experimental de Clínica Médica-FMB/UNESP-Botucatu pelo auxílio nas análises bioquímicas.

Aos estagiários do laboratório; Fernanda Panegossi, Ângelo Thompson Colombo Lo e Marina Passos Freitas, que me auxiliaram no laboratório.

À Carlyne Assis Eigenheer Pinke pela valiosa contribuição na condução das análises laboratoriais do meu estudo, e também pela paciência e companheirismo no laboratório.

SUMÁRIO

Resumo.....	09
Introdução.....	11
Material e Métodos.....	19
Resultados.....	25
Discussão.....	34
Referências.....	41

LISTA DE TABELAS

RESULTADOS

Tabela 1. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso corpóreo, peso da carcaça e peso do fígado de ratos machos ao desmame).....	25
Tabela 2. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso dos depósitos de gordura, índice de adiposidade ratos machos ao desmame).....	26
Tabela 3. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre os níveis plasmáticos de lipídios (mg/dL) e glicose (mg/dL) de ratos machos ao desmame).....	26
Tabela 4. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso corpóreo, peso da carcaça e peso do fígado de ratos fêmeas ao desmame).....	27
Tabela 5. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso dos depósitos de gordura, índice de adiposidade ratos fêmeas ao desmame).....	27
Tabela 6. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre os níveis plasmáticos de lipídios (mg/dL) e glicose (mg/dL) de ratos fêmeas ao desmame).....	28
Tabela 7. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso corpóreo, peso da carcaça e peso do fígado de ratos machos).....	29
Tabela 8. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso dos depósitos de gordura, índice de adiposidade ratos machos).....	29
Tabela 9. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre os níveis plasmáticos de lipídios (mg/dL) e glicose (mg/dL) de ratos machos).....	30
Tabela 10. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso corpóreo, peso da carcaça e peso do fígado de ratos fêmeas).....	31
Tabela 11. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso dos depósitos de gordura, índice de adiposidade ratos fêmeas).....	31
Tabela 12. (Efeito da restrição nutricional moderada sobre os níveis plasmáticos de lipídios (mg/dL) e glicose (mg/dL) de ratos fêmeas).....	32

LISTA DE FIGURAS**INTRODUÇÃO**

Figura 1. (Prevalência da obesidade, idade padronizada. Ambos os sexos, 2008).....	12
---	----

Resumo

Resumo

Estudos em humanos e animais têm demonstrado que a nutrição inadequada em fase crítica de desenvolvimento, como na gestação, pode causar alterações da prole na vida adulta. Tais estudos levaram à proposição da hipótese de “programação fetal”, segundo a qual o risco para desenvolver certas doenças é função não apenas da carga genética ou dos hábitos de vida do indivíduo adulto, como também da atuação de fatores ambientais em períodos críticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito tardio da restrição calórica materna moderada (30%), na gestação e/ou lactação sobre o metabolismo energético da prole. Foram utilizados ratos Wistar, sendo os grupos experimentais divididos da seguinte forma: NN (filhotes nascidos de mães normais e colocados em gaiolas com mães do grupo normal na lactação), NR (filhotes nascidos de mães do grupo normal e colocados em gaiolas com mães restritas na lactação), RN (filhotes nascidos de mães restritas na gestação e colocados em gaiolas com mães normais na lactação) e RR (filhotes nascidos de mães restritas na gestação e colocados em gaiolas com mães restritas na lactação). Foram avaliados o peso corporal, a ingestão de alimentos, os depósitos de gordura, o índice de adiposidade, lipídios plasmáticos, gordura hepática e gordura da carcaça. A restrição nutricional materna provocou alterações significativas tanto em machos quanto em fêmeas no período do desmame, entretanto no início da idade adulta somente os machos apresentaram mudanças mais expressivas no metabolismo energético e no desenvolvimento corpóreo. Houve uma redução no peso corpóreo dos animais machos dos grupos NR, RN e RR (8,9%, 9,0% e 14,2%, respectivamente). No entanto, somente os grupos NR e RR apresentaram diminuição nos teores de gordura hepática e triglicerídeos plasmáticos. O fornecimento de dieta *ad libitum* na lactação às mães com restrição calórica na gestação, não favoreceu o aparecimento de alterações no metabolismo lipídico nos animais machos do grupo RN. Este estudo mostra que a restrição nutricional materna moderada na gestação e/ou lactação afeta diferentemente machos e fêmeas quanto ao desenvolvimento corpóreo e o metabolismo energético, gerando machos adultos com menor peso corpóreo e reduzida deposição de gordura nos tecidos periféricos.

Palavras-chave: programação fetal, restrição calórica e metabolismo

Introdução

Introdução

A obesidade tem sido classificada como desordem metabólica causada pelo excessivo ganho de peso com estoque de gordura acarretado pelo desbalanceamento nutricional entre energia ingerida e gasta (PAULA e ROSEN, 2010). Considerada uma doença crônica metabólica devido ao acúmulo excessivo de tecido adiposo em relação à massa magra tecidual, a obesidade pode afetar desfavoravelmente a saúde.

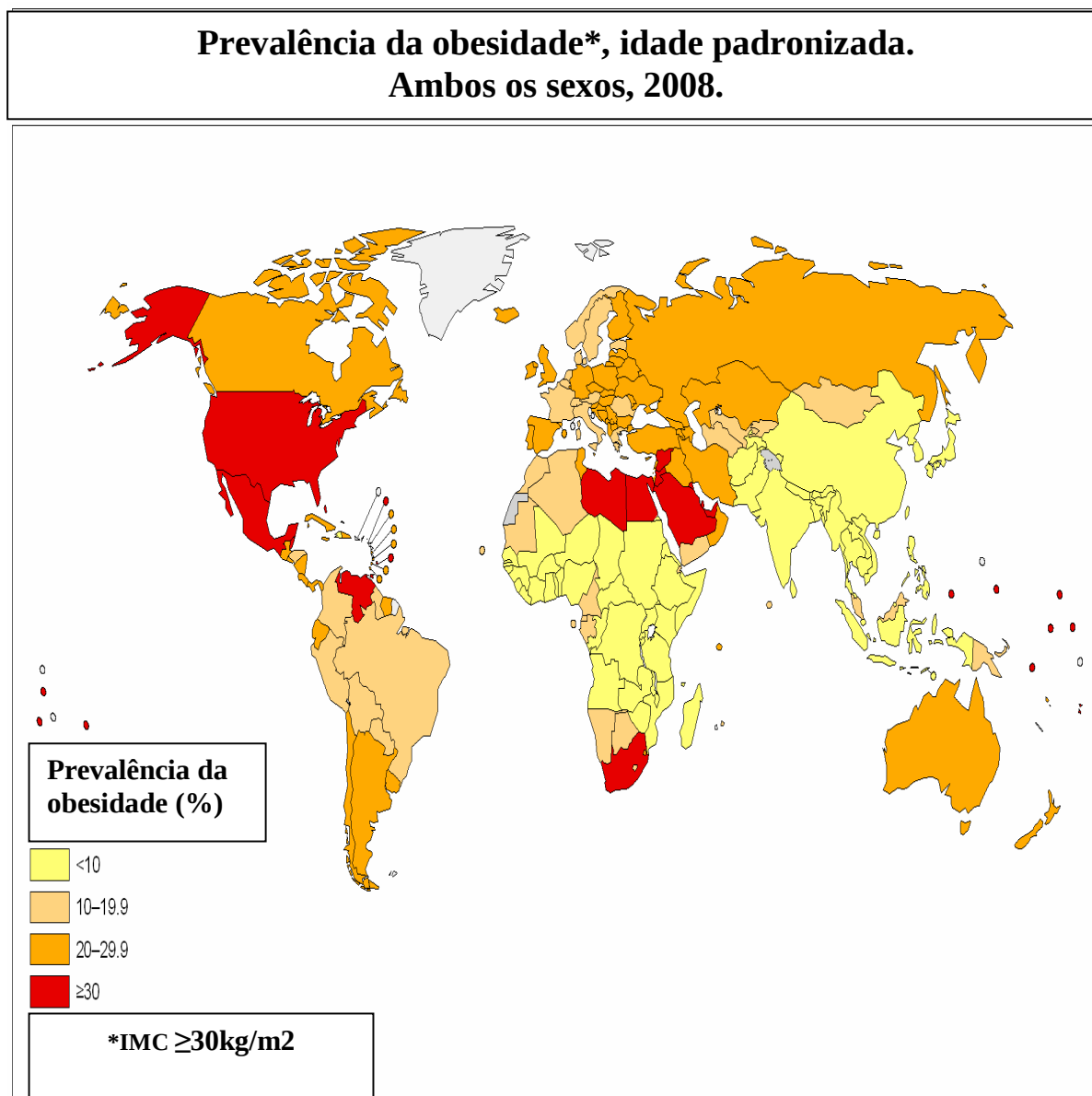
A prevalência de sobrepeso e obesidade em humanos alcançou taxas alarmantes nas últimas décadas e tem preocupado as autoridades de saúde (OGDEN et al., 2002 e OGDEN et al., 2006), e por isso passou a ser reconhecida atualmente como epidemia mundial e sério problema para a Saúde Pública pela associação com inúmeras patologias (PEREIRA et al., 2003).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, mais de dois bilhões de pessoas morrem no mundo em decorrência de serem obesas ou estarem com sobrepeso e estima-se também que 35,8 milhões (2,3%) das DALYs (Disability Adjusted Life Years) globais sejam causadas por obesidade e sobrepeso. (WHO, 2008).

Nos últimos anos houve grande avanço no conhecimento sobre os fatores que contribuem para o desenvolvimento da obesidade, e de suas conseqüências endócrinas e metabólicas para o organismo (PEREIRA et al., 1993; BHARGAVA et. al., 2004, KEITH, et al, 2006). Vários estudos mostraram uma íntima associação entre a obesidade e diabetes tipo 2 (COLLINS, 2005) e tem sido relatado que 80-85 % dos pacientes com diabetes tipo 2 apresenta obesidade (ENGELGAU et al., 2000). A Organização Mundial da Saúde estima um aumento de 170% na prevalência de diabetes tipo 2 no período de 1995 a 2025 em países industrializados (ROSS & DESAI, 2005).

Atualmente a obesidade é vista como um dos maiores problemas de saúde pública, não apenas em países da Europa e América, mas também na Ásia, África e Oceania (figura 1), ou seja, afetando tanto países desenvolvidos quanto em desenvolvimento (KOPELNAN, 2000; O'BRIEN e DIXON, 2002; ODGEN, et al. 2006; PEREIRA et al., 2003; HALPERN et al., 2004; BATISTELLA e DOMINGUES, 2005; LIMA, 2005; VEIGA, 2005 e PINKE, 2008).

Figura 1



Fonte: Adaptado de WHO (World Health Organization), 2011.

Vários fatores podem estar envolvidos no desenvolvimento da obesidade, o que a torna uma doença multifatorial (HALPERN et al., 2004), e a combinação desses fatores favorece o seu aparecimento. Esses fatores podem ser genéticos, endócrinos e ambientais, fatores sociais, farmacológicos, entre outros (SAHU, 2004; LIMA, 2005; VEIGA, 2005). Os fatores ambientais têm sido apontados como responsáveis por exercer maior influência no surgimento do sobrepeso e obesidade (ROLLS e SHIDE, 1992; KEITH et al., 2006). O estilo de vida do

homem moderno, com reduzida atividade física e hábitos nutricionais inadequados como a ingestão de alimentos com alta energia e teor elevado de gordura, associada a situações de estresse, contribuem para alta incidência de síndromes metabólicas, incluindo dislipidemias, hiperleptinemia e aumento da obesidade (TAMASHIRO & MORAN, 2010).

No Brasil, estima-se que em 2020 mais de 20% da população estará acima do peso, sendo que nos Estados Unidos a situação é ainda mais grave e poderá chegar a mais de 40% (KOPELMAN, 2000; IBGE, 2003). A obesidade está vinculada ao aumento da mortalidade (FLEGAL et al., 2007), redução na expectativa de vida (FONTAINE, et al. 2003) e pode acarretar diversas disfunções: diabetes mellitus tipo 2, aumento de certos tipos de câncer, complicações respiratórias (apnéia do sono), osteoartrites (KOPELMAN, 2000) aumento de leptina plasmática (KUNIYOSHI et al., 2003), dislipidemia (KOPELMAN e ALBON, 1997), doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, fibrilação atrial (MALNICK e KOBLER, 2006; POIRIER et al., 2006) retenção de sódio e expansão do fluido extracelular (HALL, 1997; PAWLOSKI et al., 1992).

Estudos em humanos têm mostrado que a nutrição inadequada da mãe durante a gestação pode levar ao surgimento da obesidade (VICKERS et al., 2000), da síndrome metabólica (VARVARIGOU, 2010; NÜSKEN et al., 2011), diabetes mellitus tipo II (MARTINS, 2010), hipertensão (McMILLEN e ROBINSON, 2005) e doenças cardiovasculares (GODFREY e BARKER, 2001; VELKOSKA et al., 2008) na vida adulta da prole. Existem evidências, também em humanos, que a restrição de alimentos na gestação aumenta o risco de neoplasias, insuficiência renal crônica, osteoporose, hipotireoidismo autoimune, asma na idade adulta, hipertrofia cardíaca, depressão, tumor de testículo, cirrose hepática, esquizofrenia, dificuldade auditiva no adulto, síndrome do ovário policístico, maior dificuldade de aprendizagem e menor capacidade profissional (MARTINS, 2010).

As características de um indivíduo são definidas pelos seus genes, em outras palavras, é o genoma do indivíduo quem define seu fenótipo. E uma das primeiras idéias relacionadas com a programação fetal surgiu justamente com a proposição da hipótese do “genótipo econômico” (NEEL, 1962). Nesta hipótese, postula a existência de genes primitivos, relativos ao período no qual o homem vivia somente da caça e da coleta, que seriam responsáveis por permitir ao organismo poupar o máximo de energia possível e sobreviver a prolongados períodos de jejum.

Assim, o indivíduo portador desses genes passaria a ter o seu organismo adaptado a sobreviver a uma condição de escassez alimentar e conseqüentemente seria mais suscetível a desenvolver doenças como o diabetes mellitus e a síndrome metabólica sob o regime de farta alimentação. Entretanto, não se conseguia determinar qual o tipo de herança genética ou vantagem adaptativa desses genes primitivos. No início do século XX o estudo epidemiológico feito por Barker & Osmond (1986) conseguiu mostrar a influência das condições de vida na fase pré-natal e neonatal sobre a vida adulta de um indivíduo. Barker acreditava que a principal causa desta associação era o fato de que a nutrição inadequada no período fetal favorecia o surgimento tardio de doenças. Na segunda metade do século XX, Hales e Barker (1992) propuseram a hipótese do “fenótipo econômico” na qual sugerem que o desenvolvimento fetal seja afetado pelo ambiente nutricional em que se encontra.

Respostas adaptativas no metabolismo energético podem ser programadas por meio de mecanismos epigenéticos em função de mudanças no meio fetal (GICQUEL et al., 2008; JONES e OZANNE, 2009). De fato, a habilidade que o organismo tem em alterar o seu desenvolvimento dependendo do ambiente requer regulação da expressão gênica estável mediada pelo processo epigenético que envolve a metilação do DNA e a modificação das proteínas histonas. Desta forma, tanto o genoma quanto o epigenoma poderiam influenciar o fenótipo e favorecer a plasticidade, considerada um paradigma da interação entre genes e ambiente (LANHAM et al., 2010). Passou-se, então, a considerar que o feto possui estágios de maior plasticidade que lhe permitem adaptar-se ao meio em que se encontra. Essas adaptações resultariam em alterações de ordem genética, fisiológica e metabólica nos indivíduos que estão associados a doenças como hipertensão, aterosclerose, dislipidemia, obesidade, diabetes tipo 2, síndrome do ovário policístico, asma, osteoporose, hipertireoidismo, hipercortisolismo, demência e esquizofrenia (FOWDEN et al, 2006). Portanto, o ambiente em que o feto se encontra seria mais relevante para determinar quais características que ele irá desenvolver na vida adulta do que sua herança genética.

A desnutrição no período gestacional, além de restringir o crescimento intrauterino altera a circulação fetal; que passa a ser orientada para o sistema nervoso central. Desta forma, afeta o crescimento do fígado e, por conseguinte, provoca distúrbios no metabolismo lipídico e de glicose, com alterações permanentes em duas enzimas hepáticas: a fosfoenolpiruvato carboxilase e a glicoquinase, ambas envolvidas na síntese e quebra da glicose (BARKER,

1998). Essa redistribuição do fluxo sanguíneo intrauterino também pode prejudicar outros órgãos do trato gastrointestinal, alterando a composição destes e a secreção de hormônios que atuam no crescimento fetal (GURMINI et al., 2005). E considerando que grande parte do desenvolvimento do sistema regulador do balanço energético ocorre no período perinatal, condições desfavoráveis nesta fase de desenvolvimento também podem reprogramar o metabolismo, provocando o seu ajuste às condições desfavoráveis do ambiente que são mantidas pelo resto da vida do animal (REMMERS e DELEMARRE-VAN DE WALL, 2011).

Outro importante conceito é o de que dependendo da fase gestacional em que o ambiente intrauterino é exposto a condições adversas, o indivíduo pode ficar propenso a desenvolver uma ou outra doença decorrente desta condição. Segundo Rinaudo e Wang (2012), se houver prejuízo no início da gestação, o feto terá maior predisposição ao desenvolvimento de doenças coronarianas, se na fase intermediária do desenvolvimento fetal, maior risco de problemas renais e, se ocorrer no final da gestação, o indivíduo estará mais propenso a apresentar baixo peso ao nascer e alterações no seu metabolismo intermediário o que levará ao desenvolvimento da obesidade e doenças relacionadas. Além do mais, a restrição de nutrientes desde o período da pré-implantação do embrião até o seu nascimento pode desencadear intolerância à glicose na vida adulta (RINAUDO e WANG, 2012). Além da influência da nutrição no desenvolvimento durante a vida intrauterina, estudos têm demonstrado a importância da nutrição após o nascimento, apresentando um papel fundamental na saúde do animal na vida adulta. É no início da vida após nascimento que acontecem os eventos de plasticidade fisiológica (BUCKLEY et al., 2005). Assim, os efeitos da restrição nutricional intrauterina podem ser minimizados quando a alimentação materna desbalanceada durante a gestação, torna-se equilibrada durante a lactação. No entanto, se alimentação durante a lactação ainda for desbalanceada, seja ela com restrição de nutrientes ou dieta hipercalórica, esta situação poderá amplificar as alterações provocadas durante o desenvolvimento fetal (BUCKLEY et al., 2005).

O apetite e o balanço energético são regulados por um complexo circuito neural no hipotálamo que recebe sinais nutricionais, hormonais e neurais provenientes de tecidos periféricos como adipócitos, pâncreas e do trato gastrointestinal. Essa sinalização age em regiões específicas do hipotálamo ativando os neuropeptídeos reguladores da ingestão alimentar: os neuropeptídeos orexigênicos, o neuropeptídeo Y (NPY) e a proteína relacionada à agouti (AGRP), e os neuropeptídeos anorexigênicos, a proopiomelanocortina (POMC) e o

transcrito relacionado à cocaína e à anfetamina (CART) (McMILLEN e ROBINSON, 2005). Assim, o hipotálamo fetal pode ser um importante local de transição das mudanças no estado endócrino pré-natal desencadeando a programação (GODFREY e BARKER, 2001).

A insulina e a leptina estão envolvidas na regulação do apetite, do balanço energético e, conseqüentemente, do peso corporal. A insulina atua inibindo a ação de NPY e AGRP e estimulando POMC e CART no núcleo arqueado do hipotálamo (ARC), assim reduzindo a ingestão alimentar. A leptina age da mesma forma que a insulina, reduzindo a ingestão alimentar (SCHWARTZ et al., 2000; WOODS et al., 2004; PINKE, 2008). Embora estes hormônios atuem simultaneamente no hipotálamo, a insulina é o primeiro hormônio a agir na redução da ingestão; além disso, ela também promove o estoque de gordura corporal, que irá aumentar a secreção de leptina, assim potencializando a sinalização no hipotálamo, com conseqüente redução da ingestão de alimentos (SCHWARTZ et al., 2000; BENOIT et al., 2004).

O quadro de resistência aos hormônios insulina e leptina desencadeados pela programação fetal pode induzir a situações de hiperfagia, obesidade e hipertensão na vida adulta (VICKERS et al., 2000; VICKERS et al., 2003). A hiperfagia pós-desmame pode ser programada durante a vida fetal por desnutrição materna assim como durante o período de amamentação com aumento da ingestão de leite (BAYOL et al., 2007).

Além de alterações metabólicas, a restrição de nutrientes durante a gestação pode provocar alterações no trato gastrointestinal, tanto na morfologia dos órgãos como na atividade das enzimas digestivas (GURMINI et al., 2005; TIMOFEEVA et al., 2008). Proles de fêmeas que sofreram desnutrição durante a gestação podem apresentar modificações morfológicas da mucosa intestinal com redução da superfície de absorção intestinal devido à menor quantidade de vilosidades que se apresentam mais curtas e largas (TAKANO, 1964; SHRADER e ZEMAN, 1969). Existe a possibilidade de também causarem a diminuição do conteúdo de DNA, do comprimento do intestino delgado e da menor taxa de migração dos enterócitos ao longo das vilosidades (GUTIÉRREZ et al., 1988; GURMINI et al., 2005).

A desnutrição materna também pode provocar alterações no tipo de fibra muscular esquelética e essas alterações na morfologia muscular podem ter uma importante influência no desenvolvimento da resistência à insulina (LEANDRO et al., 2012). Estudos mostram que a desnutrição fetal reduz as fibras musculares sensíveis à insulina, provocando diminuição do

tecido muscular esquelético e aumentando o tecido adiposo, com baixos níveis da proteína transportadora de glicose, GLUT4, em ambos os tecidos (SEVILLA et al., 1997; MARTINS, 2010). Além disso, a restrição alimentar durante a gestação ou imediatamente após o nascimento promove redução da massa muscular esquelética (McMILLEN e ROBINSON, 2005), que parece estar relacionada com mudanças na expressão de genes associados ao processo de crescimento muscular (BAYOL et al., 2004; GICQUEL et al., 2008).

Diversos estudos com desnutrição materna apontam, então, para diversas alterações metabólicas e cardiovasculares que contribuem para o surgimento de patologias como a obesidade, hipertensão e diabetes tipo II na vida adulta. A restrição de nutrientes durante o período gestacional pode estar relacionada com o desenvolvimento de diversas outras doenças no início da vida adulta, bem como podem provocar modificações no metabolismo do indivíduo, alterações no metabolismo lipídico e na atividade das enzimas digestivas. Entretanto, ainda são poucos os relatos existentes sobre esse assunto, necessitando de mais estudos que correlacionam a restrição de nutrientes durante o período de formação do indivíduo.

Diferentes modelos têm sido utilizados para se demonstrar a programação fetal, entre eles: a insuficiência placentária com a ligação da artéria uterina ou a manipulação dietética (ARMITAGE et al., 2004; NÜSKEN et al., 2011, RAO et al., 2012). A restrição nutricional; global, protéica ou de micronutrientes (RAO et al., 2012), atua na formação fetal e modifica todo o seu metabolismo do animal, deixando-o mais suscetível ao desenvolvimento de obesidade, resistência à insulina e diabetes quando se tornar um jovem adulto (SEKI et al., 2012). A restrição nutricional materna de 30% tem sido considerada moderada (PALOU et al., 2010b) e a restrição nutricional materna acima de 50% como severa (BOXWELL et al., 1995). Alterações no metabolismo hepático da glicose, assim como mudanças no metabolismo do colesterol, na resistência à insulina e no desenvolvimento renal foram observadas em ratos cujas mães receberam dietas com baixa proteína ou energia durante a gestação (GODFREY e BARKER, 2001).

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da restrição calórica materna de 30%, considerada moderada, no período da gestação e/ou lactação sobre o desenvolvimento corpóreo e o metabolismo energético da prole adulta.

Material e Métodos

Material e Métodos

Os procedimentos experimentais utilizados neste estudo foram feitos de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pela Comissão de ética na Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biociências de Botucatu (processo nº338- CEEA).

Animais

Foram utilizadas 32 fêmeas primíparas de ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, com aproximadamente 16 semanas de idade, provenientes do Biotério Central da UNESP – Botucatu. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno, em biotério com controle do fotoperíodo (12h de luz) e de temperatura (mantida em torno de 21°C). Da entrada dos animais no biotério ao início do experimento, foi realizado um período de adaptação de três semanas e as fêmeas foram alimentadas *ad libitum*.

Os animais foram utilizados para acasalamento aleatório poligâmico de duas fêmeas para um macho em cada caixa. Na manhã seguinte ao acasalamento, os machos foram retirados e foi feito o esfregaço vaginal para diagnóstico da prenhez, sendo que a presença de espermatozóides marcou o primeiro dia de gestação. Neste momento, as fêmeas foram transferidas para caixas individuais para formação dos grupos experimentais. Os animais, durante o período de acasalamento, foram alimentados com ração comercial padrão de biotério (Nuvilab CR-1®) e água *ad libitum*.

A restrição alimentar de 30% do grupo restrito foi ajustado diariamente sempre considerando o consumo médio diário das fêmeas do grupo controle, de acordo com a fase da lactação.

O consumo de ração das ratas foi controlado diariamente e a ingestão alimentar (IA) juntamente com a energia ingerida (EI) foi calculado por período, de acordo com as seguintes fórmulas:

$$IA \text{ (g)} = \Sigma(\text{consumo alimentar } 1\text{-}21\text{dias})$$

$$EI \text{ (Kcal)} = IA \times \text{Energia Ração}/1000$$

Os filhotes foram pesados semanalmente do desmame até atingirem 16 semanas de idade.

Grupos experimentais

Gestação

Na gestação as fêmeas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos experimentais que diferiram quanto ao manejo alimentar, sendo um grupo controle (n=16), formado por ratas alimentadas *ad libitum* com dieta controle e um grupo restrito (n=16) com fêmeas alimentadas com restrição de 30% da quantidade ingerida pelo grupo controle, gerando, desta forma, uma restrição calórica. A quantidade de alimento fornecida ao grupo restrito foi calculada diariamente utilizando o consumo médio das fêmeas do grupo controle, desta forma ajustando a ingestão com a fase gestacional. Formando-se, portanto, dois grupos:

N (normal, n= 16): Mães com dieta *ad libitum* durante o período da gestação;

R (restrito, n= 16): Mães com dieta restrita de 30% durante o período da gestação;

Lactação

As mães que receberam a dieta controle na gestação, após o nascimento dos filhotes, foram divididas aleatoriamente em dois grupos; um grupo continuou a receber dieta controle no período da lactação e o outro passou a receber a dieta restrita. O mesmo ocorreu com as mães que receberam dieta restrita, um grupo continuou a receber a dieta restrita e o outro passou a receber a dieta controle após o nascimento dos filhotes. Assim os animais foram divididos nos seguintes grupos no período da lactação:

NN (normal/normal, n= 8): Mães com dieta *ad libitum* durante o período da gestação e da lactação;

NR (normal/restrito, n= 8): Mães com dieta *ad libitum* durante o período da gestação e dieta restrita de 30% na lactação;

RN (restrito/normal, n=8): Mães com dieta restrita de 30% durante o período da gestação e dieta *ad libitum* na lactação;

RR (restrito/restrito n= 8): Mães com dieta restrita de 30% durante o período da gestação e da lactação;

Filhotes

Após o nascimento, os filhotes foram pesados individualmente e o tamanho da ninhada foi registrado e ajustado para oito filhotes por fêmea durante todo o período da lactação (quatro machos e quatro fêmeas) em cada gaiola até o período do desmame (3ª semana). Este procedimento foi adotado com o objetivo de manter a igualdade de proles sendo os filhotes excedentes sacrificados por decapitação. Dois machos e duas fêmeas foram selecionados para experimentação, sendo um par (macho e fêmea) analisado na 3ª semana de idade, e o segundo par na 16ª semana de idade.

Após o desmame todos os filhotes selecionados foram alimentados normalmente até a idade adulta (16 semanas de vida), de maneira que os grupos experimentais ficaram assim delineados:

NN (normal/normal, n= 16): sendo 8 ratos machos e 8 ratos fêmeas alimentados com dieta *ad libitum* após desmame, provenientes de mães que receberam dieta *ad libitum* na gestação e lactação;

RN (restrito/normal, n=16): sendo 8 ratos machos e 8 ratos fêmeas alimentados com dieta *ad libitum* após desmame, provenientes de mães que receberam dieta com restrição de 30% na gestação e dieta *ad libitum* na lactação;

NR (normal/restrito, n= 16): sendo 8 ratos machos e 8 ratos fêmeas alimentados com dieta *ad libitum* após desmame, provenientes de mães que receberam dieta *ad libitum* na gestação e dieta com restrição de 30% na lactação;

RR (restrito/restrito, n= 16): sendo 8 ratos machos e 8 ratos fêmeas alimentados com dieta *ad libitum* após desmame, provenientes de mães que receberam dieta com restrição de 30% na gestação e lactação;

Características Avaliadas

Peso corporal e ganho de peso

Os animais foram pesados ao nascimento, ao desmame, e na 16ª semana de idade. O ganho de peso foi calculado com base na diferença entre o peso do animal adulto (16 semanas de idade) e o peso do animal ao desmame.

Depósitos de gordura e índice de adiposidade

Aos 21 dias e após 16 semanas de idade, um macho e uma fêmea foram pesados e sacrificados por decapitação. Após abertura da cavidade abdominal, os depósitos de gordura da região retroperitoneal e perigonadais (periepididimal e periovarina) foram retirados e pesados. A gordura corporal total foi caracterizada pela soma dos três depósitos de gordura mensurados. A obesidade foi determinada pelo índice de adiposidade da seguinte forma:

$$[(\text{gordura perigonadal} + \text{retroperitoneal} + \text{visceral}) / \text{peso corporal final}] \times 100$$

Lipídios plasmáticos

Amostras de sangue foram coletadas em tubos de centrifuga previamente heparinizados e centrifugadas por 15 minutos a 3.000 rpm para separação do plasma. Alíquotas do plasma foram coletadas e armazenadas em freezer a – 5°C para posterior análise de lipídios.

Os níveis plasmáticos de colesterol total, triglicerídeos e HDL - colesterol foram determinados através de kits comerciais (Labclin), seguindo instruções do fabricante, e as leituras serão feitas em espectrofotômetro Ultrospec 2000 (Pharmacia Biotech). O teor de VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa) foi calculado utilizando-se a Equação de Friedewald, dividindo-se o teor de triglicerídeos plasmáticos por cinco. O LDL (lipoproteína de baixa densidade) foi calculado subtraindo-se o valor de HDL e VLDL do valor de colesterol total (FRIEDEWALD et al., 1972).

Gordura hepática e gordura da carcaça

O fígado foi rapidamente removido, pesado e congelado para posterior análise do teor de gordura, através do método de Folch et al. (1957). Após a retirada do trato gastrointestinal, a carcaça foi pesada e a gordura determinada segundo o método de Jansen et al. (1966).

Estatística

Os resultados estão apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Para efeito de comparação entre as médias dos grupos de mesma idade e do mesmo sexo foi utilizada a análise de variância, complementada pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Resultados

Resultados

Ratos com três semanas de idade

Machos

A restrição nutricional materna de 30% durante a gestação provocou redução ($p<0,05$) no peso corpóreo dos filhotes machos RN e RR ao nascer. Ao desmame, os grupos NR e RR apresentaram menor peso corpóreo, peso de carcaça e peso de fígado ($p<0,05$) (Tabela 1).

Os filhotes cujas mães sofreram restrição nutricional na lactação (grupo NR) e na lactação e gestação (grupo RR) apresentaram depósitos de gordura e índice de adiposidades inferiores ($p<0,05$) aos dos grupos NN e RN. O grupo RR apresentou o mais baixo índice de adiposidade ($p<0,05$) (Tabela 2).

No grupo NR, cujas mães sofreram restrição apenas na lactação, as concentrações plasmáticas de triglicerídeos e conseqüentemente de VLDL foram menores quando comparados com os grupos NN. Os filhotes das mães restritas na gestação e lactação (grupo RR) mesmo apresentando níveis reduzidos de triglicerídeos e VLDL, entretanto mostraram os maiores níveis de LDL-colesterol (Tabela 3). Os menores níveis glicêmicos foram observados nos grupos NR e RR ($p<0,05$) (Tabela 3).

Tabela 1. Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso corpóreo, peso da carcaça e peso do fígado em machos ao desmame.

	NN	NR	RN	RR
Peso ao Nascer (g)	6,38±0,37 ^a	6,15±0,39 ^a	5,95±0,38 ^b	6,00±0,48 ^b
Peso ao Desmame (g)	43,39±4,40 ^a	31,07±4,80 ^b	42,17±6,55 ^a	30,20±2,74 ^b
Peso da Carcaça (g)	33,65±3,52 ^a	24,97±2,13 ^b	36,08±2,82 ^a	24,72±2,16 ^b
Peso do Fígado (g)	1,71±0,23 ^a	0,96±0,28 ^b	1,87±0,29 ^a	1,01±0,11 ^b

NN= alimentação *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b} Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Tabela 2. Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso dos depósitos de gordura, índice em adiposidade de machos ao desmame.

	NN	NR	RN	RR
Retroperitoneal (g)	0,06±0,02 ^b	0,02±0,01 ^c	0,10±0,02 ^a	0,02±0,01 ^c
Perigonadal (g)	0,08±0,02 ^a	0,02±0,01 ^b	0,09±0,02 ^a	0,02±0,00 ^b
Visceral (g)	0,21±0,04 ^a	0,14±0,04 ^b	0,23±0,04 ^a	0,14±0,03 ^b
Índice de Adiposidade	0,80±0,12 ^a	0,63±0,14 ^b	0,91±0,12 ^a	0,59±0,08 ^b

NN= alimentação *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b}Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 3. Efeito da restrição nutricional moderada sobre os níveis plasmáticos de lipídios (mg/dL) e glicose (mg/dL) em machos ao desmame.

	NN	NR	RN	RR
Triglicerídeos	216,00±74,65 ^a	93,50±19,52 ^b	181,06±38,01 ^a	81,63±2,87 ^b
Colesterol	109,25±9,44 ^a	93,78±10,74 ^a	110,93±15,58 ^a	109,80±25,14 ^a
HDL – colesterol	20,18±6,43 ^a	11,91±6,20 ^b	23,79±7,29 ^a	16,62±5,23 ^a
LDL – colesterol	44,00±8,45 ^b	62,60±10,52 ^a	51,89±11,26 ^b	81,00±25,26 ^a
VLDL	43,29±15,00 ^a	18,70±4,03 ^b	36,20±7,55 ^a	16,40±4,06 ^b
Glicose	169,19±22,71 ^a	140,33±14,19 ^b	164,64±14,61 ^a	140,54±20,19 ^b

NN= alimentação *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b}Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fêmeas

A restrição nutricional materna de 30% durante a gestação não provocou redução (p<0,05) no peso corpóreo das fêmeas ao nascer. Ao desmame, os grupos NR e RR apresentaram menor peso corpóreo e peso de fígado (p<0,05) (Tabela 4).

As fêmeas cujas mães sofreram restrição nutricional somente na lactação (grupo NR) e na gestação e lactação (grupo RR), da mesma forma que nos machos, também apresentaram depósitos de gordura e índice de adiposidades inferiores ao desmame (p<0,05) quando comparado com os grupos NN e RN (p<0,05) (Tabela 5).

No grupo NR, as concentrações plasmáticas de triglicerídeos e de VLDL foram menores quando comparados com o grupo NN. As fêmeas nascidas de mães restritas na gestação e lactação (grupo RR) apresentaram níveis reduzidos de triglicerídeos e VLDL; entretanto, mostraram um dos maiores níveis de LDL-colesterol juntamente com as proles oriundas de mães restritas somente na lactação (grupo NR) (Tabela 6). O menor nível glicêmico foi observado no grupo RR. ($p<0,05$) (Tabela 6).

Tabela 4. Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso corpóreo, peso da carcaça e peso do fígado em fêmeas ao desmame.

	NN	NR	RN	RR
Peso ao Nascer (g)	5,94±0,53 ^a	5,77±0,35 ^a	5,61±0,42 ^a	5,55±0,43 ^a
Peso Desmame (g)	43,18±2,66 ^a	30,26±5,70 ^b	42,57±5,91 ^a	28,80±2,45 ^b
Peso da Carcaça (g)	35,05±3,13 ^{ab}	29,22±18,86 ^{ab}	35,60±3,88 ^a	23,86±1,81 ^b
Peso do Fígado (g)	1,73±0,25 ^a	1,00±0,09 ^b	1,74±0,28 ^a	1,05±0,09 ^b

NN= alimentados *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b}Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Tabela 5. Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso dos depósitos de gordura, índice de adiposidade em fêmeas ao desmame.

	NN	NR	RN	RR
Retroperitoneal (g)	0,06±0,02 ^a	0,02±0,01 ^b	0,07±0,03 ^a	0,02±0,02 ^b
Perigonadal (g)	0,07±0,03 ^a	0,01±0,01 ^b	0,05±0,02 ^a	0,01±0,01 ^b
Visceral (g)	0,23±0,07 ^a	0,13±0,02 ^b	0,21±0,07 ^a	0,13±0,02 ^b
Índice de Adiposidade	0,81±0,22 ^a	0,57±0,08 ^b	0,73±0,17 ^a	0,55±0,10 ^b

NN= alimentados *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b}Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Tabela 6. Efeito da restrição nutricional moderada sobre os níveis plasmáticos de lipídios (mg/dL) e glicose (mg/dL) em fêmeas ao desmame.

	NN	NR	RN	RR
Triglicerídeos	168,78±28,20 ^a	112,70±39,87 ^b	175,13±41,59 ^a	103,99±40,11 ^b
Colesterol	102,33±11,86 ^a	118,05±27,26 ^a	110,86±15,67 ^a	105,39±25,33 ^a
HDL – colesterol	20,85±6,37 ^a	17,00±6,95 ^a	19,92±6,82 ^a	19,24±4,40 ^a
LDL – colesterol	50,71±13,73 ^b	75,25±17,14 ^a	50,00±9,21 ^b	70,90±16,79 ^a
VLDL	33,75±5,50 ^a	22,43±8,14 ^b	35,00±8,19 ^a	20,73±8,15 ^b
Glicose	156,93±17,88 ^{ab}	150,02±21,34 ^{ab}	163,29±11,78 ^a	141,84±18,37 ^b

NN= alimentados *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b}Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Ratos com dezesseis semanas de idade

Machos

Ao desmame, os animais machos provenientes de mães sofreram restrição na gestação e/ou lactação (NR e RR) apresentaram um menor peso corpóreo (p<0,05) comparado com o grupo controle (Tabela 7). No entanto, o peso corpóreo dos machos restritos apenas na gestação (grupo RN) não foi diferente daquele observado no grupo controle, mostrando um ganho de peso compensatório durante a lactação. Na idade adulta (16 semanas de vida), os grupos NR e RR, cujas mães sofreram restrição nutricional somente na lactação e na gestação e lactação respectivamente, apresentaram menor peso corpóreo e peso de carcaça em relação ao grupo NN (p<0,05). Nenhum efeito da restrição nutricional materna foi observado no peso do fígado nos diferentes grupos experimentais (p<0,05) (Tabela 7).

Os machos cujas mães sofreram restrição nutricional na lactação e gestação (grupo RR) apresentaram depósitos de gordura e índice de adiposidade inferior (p<0,05) ao do grupo NN. O grupo RR apresentou também menor percentagem de gordura hepática juntamente com o grupo NR quando comparado ao grupo NN (p<0,05) (Tabela 8).

Nos animais do grupo RR, as concentrações plasmáticas de triglicerídeos foram menores quando comparados com os outros grupos; entretanto não houve diferença nas concentrações de VLDL entre os grupos. Não foi observado nenhum efeito da restrição

nutricional materna sobre os níveis plasmáticos de colesterol, HDL-colesterol, LDL-colesterol, bem como sobre a concentração de glicose ($p < 0,05$) (Tabela 9).

Tabela 7. Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso corpóreo, peso da carcaça e peso do fígado em machos com 16 semanas de idade.

	NN	NR	RN	RR
Consumo	2169,05±66,15 ^a	2125,47±163,72 ^a	2104,09±196,17 ^a	2037,53±101,04 ^a
Peso 16 (g)	444,83±21,08 ^a	405,24±28,19 ^b	404,78±30,96 ^b	381,45±22,84 ^b
Peso da Carcaça (g)	374,03±14,37 ^a	327,90±47,52 ^b	348,96±30,50 ^a	315,24±16,96 ^b
Ganho de peso* (g)	401,94±19,63 ^a	372,36±29,08 ^{ab}	367,46±27,75 ^b	350,54±23,44 ^b
Peso do Fígado (g)	15,69±1,60 ^a	13,57±2,18 ^a	14,52±1,40 ^a	14,13±2,18 ^a

NN= alimentados *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; P16: peso com 16 semanas de idade; * 3 a 16 semanas; ^{a,b} Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 8. Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso dos depósitos de gordura, índice de adiposidade em machos com 16 semanas de idade.

	NN	NR	RN	RR
Retroperitoneal (g)	6,69±2,19 ^a	5,10±1,74 ^{ab}	5,90±2,05 ^a	3,43±1,36 ^b
Perigonadal (g)	6,20±1,36 ^a	4,21±1,44 ^{bc}	5,77±1,70 ^{ab}	3,64±1,22 ^c
Visceral (g)	4,33±1,95 ^a	3,96±1,11 ^a	3,81±1,45 ^a	2,79±0,74 ^b
Índice de Adiposidade	3,89±0,98 ^a	3,24±0,80 ^{ab}	3,81±0,93 ^a	2,56±0,72 ^b
Gordura Hepática (%)	6,24±1,13 ^a	4,11±0,27 ^b	5,42±0,42 ^{ab}	4,62±0,45 ^b
Gordura de carcaça (%)	13,56±4,22 ^a	15,30±6,68 ^a	12,78±1,75 ^a	12,17±3,79 ^a

NN= alimentados *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b} Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 9. Efeito da restrição nutricional moderada sobre os níveis plasmáticos de lipídios (mg/dL) e glicose (mg/dL) em machos com 16 semanas de idade.

	NN	NR	RN	RR
Triglicerídeos	86,63±19,65 ^a	69,52±19,99 ^a	78,27±19,88 ^a	59,40±14,64 ^b
Colesterol	65,83±15,74 ^a	64,14±21,09 ^a	63,44±10,37 ^a	64,77±7,18 ^a
HDL – colesterol	16,52±5,62 ^a	18,59±4,89 ^a	16,00±1,93 ^a	17,67±3,11 ^a
LDL – colesterol	31,00±8,41 ^a	31,67±11,02 ^a	35,75±8,40 ^a	34,00±7,59 ^a
VLDL	18,29±3,40 ^a	13,67±4,13 ^a	15,78±4,09 ^a	13,82±4,75 ^a
Glicose	179,47±24,70 ^a	173,52±13,31 ^a	170,21±18,62 ^a	167,11±19,02 ^a

NN= alimentados *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b}Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fêmeas

Na idade adulta (16 semanas), não foi observada nenhum efeito da restrição nutricional materna sobre o peso corpóreo, o peso da carcaça, ganho de peso e peso de fígado das fêmeas (p<0,05) (Tabela 10). Da mesma forma, não foi encontrado qualquer diferença entre os grupos nas fêmeas de 16 semanas para nenhum dos depósitos de gordura avaliados bem como para o índice de adiposidade (p<0,05) (Tabela 11). Os animais nascidos de mães que sofreram restrição nutricional materna na gestação e/ou lactação não apresentaram diferenças no teor de gordura hepática quando comparado com o grupo controle (p<0,05) (Tabela 11).

Quanto às concentrações plasmáticas de triglicerídeos, colesterol, HDL - colesterol, LDL - colesterol e de glicose avaliados nas fêmeas de 16 semanas, não foi observada qualquer diferença significativa (p<0,05) entre os grupos avaliados. Entretanto, o grupo RN apresentou maior concentração nos níveis plasmáticos de VLDL enquanto que o grupo RR as menores concentrações (p<0,05). Níveis intermediários de VLDL foram observados para os grupos NN e NR (Tabela 12).

Tabela 10. Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso corpóreo, peso da carcaça e peso do fígado em fêmeas com 16 semanas de idade.

	NN	NR	RN	RR
Consumo (g)	1512,38±129,14 ^a	1565,33±137,13 ^a	1534,47±81,03 ^a	1508,64±209,98 ^a
P16 (g)	253,85±17,65 ^a	259,52±17,80 ^a	246,11±25,60 ^a	251,44±23,93 ^a
Peso da Carcaça (g)	207,97±18,04 ^a	215,69±14,74 ^a	213,01±19,42 ^a	209,99±20,95 ^a
Ganho de peso* (g)	211,19±16,82 ^a	226,32±15,27 ^a	208,44±25,13 ^a	222,78±22,28 ^a
Peso do Fígado (g)	9,04±0,51 ^a	9,39±1,11 ^a	9,31±1,21 ^a	9,13±0,87 ^a

NN= alimentação *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; P16: peso com 16 semanas de idade; * 3 a 16 semanas; ^{a,b} Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 11. Efeito da restrição nutricional moderada sobre o peso dos depósitos de gordura, índice de adiposidade em fêmeas com 16 semanas de idade.

	NN	NR	RN	RR
Retroperitoneal (g)	2,89±1,17 ^a	3,03±0,91 ^a	2,94±1,38 ^a	3,29±2,05 ^a
Perigonadal (g)	4,16±1,58 ^a	3,41±1,40 ^a	4,04±1,31 ^a	3,81±2,08 ^a
Visceral (g)	3,36±0,91 ^a	3,29±0,44 ^a	3,47±1,43 ^a	3,10±1,13 ^a
Índice de Adiposidade	4,10±0,89 ^a	3,74±0,85 ^a	4,18±1,37 ^a	3,95±1,60 ^a
Gordura Hepática (%)	5,55±0,83 ^a	5,42±0,89 ^a	5,55±0,42 ^a	5,22±0,67 ^a
Gordura de carcaça (%)	14,00±4,98 ^a	17,74±6,68 ^a	11,49±7,45 ^a	10,89±6,34 ^a

NN= alimentação *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação ^{a,b} Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 12. Efeito da restrição nutricional moderada sobre os níveis plasmáticos de lipídios (mg/dL) e glicose (mg/dL) em fêmeas com 16 semanas de idade.

	NN	NR	RN	RR
Triglicerídeos	47,84±4,93 ^a	48,72±11,95 ^a	53,40±13,14 ^a	44,16±7,85 ^a
Colesterol	69,56±10,48 ^a	71,94±10,15 ^a	67,25±10,44 ^a	74,18±6,77 ^a
HDL – colesterol	18,74±3,25 ^a	18,31±4,89 ^a	18,34±2,55 ^a	19,44±2,79 ^a
LDL – colesterol	42,00±9,33 ^a	44,00±9,14 ^a	36,83±8,30 ^a	44,88±8,22 ^a
VLDL	8,86±1,86 ^{ab}	10,00±2,55 ^{ab}	12,17±4,17 ^a	8,13±2,10 ^b
Glicose	161,55±12,81 ^a	167,40±18,02 ^a	173,30±19,82 ^a	167,99±19,18 ^a

NN= alimentação *ad libitum* na gestação e lactação; NR= alimentação *ad libitum* na gestação e restrição alimentar 30% na lactação; RN= restrição alimentar 30% na gestação e alimentação *ad libitum* na lactação; RR= restrição alimentar 30% na gestação e lactação; ^{a,b} Médias ± desvio padrão na linha seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Discussão

Discussão

Este estudo mostra que a restrição nutricional materna moderada afeta diferentemente machos e fêmeas quanto ao desenvolvimento corpóreo e o metabolismo energético. De fato, os animais machos quando atingem a idade adulta, diferentemente das fêmeas, apresentam menor peso corpóreo e reduzida deposição de gordura nos tecidos periféricos. As razões deste dimorfismo sexual frente à restrição nutricional materna moderada podem estar relacionadas com as diferenças entre sexo na sensibilidade central aos níveis de leptina e insulina (PALOU et al., 2010b). Estudos em ratos mostraram que o cérebro de fêmeas, comparado com o dos machos, apresenta maior sensibilidade à ação da leptina, enquanto que o dos machos é mais sensível à insulina (CLEGG et al., 2003) e estas diferenças estão em parte associadas aos hormônios gonadais, especialmente os estrógenos, que no cérebro aumentam a sensibilidade à leptina e reduzem a da insulina (CLEGG et al., 2006). Os resultados destes estudos sustentam a hipótese de que a programação de mudanças no *milieu* hormonal, particularmente nos hormônios sexuais, como uma consequência da restrição calórica durante a gestação, pode contribuir para explicar as diferenças entre sexos relacionadas com a sensibilidade da leptina e ganho de peso corporal (PALOU et al., 2010a).

A nutrição desbalanceada das mães durante os períodos da gestação e lactação afeta, em longo prazo, sua prole e a capacidade do feto em se adaptar à restrição de nutrientes modifica todo seu metabolismo, e essa nova situação estaria associada a algumas doenças na vida adulta (McMILLEN e ROBINSON, 2005; WILLIAM, 2006; BARKER, 2007).

No presente estudo, a restrição nutricional materna moderada (30%) na gestação provocou redução no peso corpóreo ao nascimento, que foi significativa apenas nos filhotes machos (grupos RN e RR). Esta redução no peso corpóreo dos animais ao nascer, como consequência da restrição nutricional materna, também foi observada por Vickers et al. (2000) e Howie et al. (2012). Entre os fatores que podem ter contribuído para o menor peso corpóreo dos animais como efeito da restrição nutricional materna estão a redução da massa muscular, o aumento dos hormônios catabólicos e alterações no trato gastrointestinal.

O período da gestação tem sido considerado crítico para a formação das fibras musculares (miogênese), coincidindo com o período de formação de miotúbulos secundários (WILSON et al., 1988). Durante a formação do tecido muscular, os mioblastos mononucleados se fundem para formar miotubos primários multinucleados, caracterizados inicialmente por

núcleos centrais. Subseqüentemente, outros mioblastos se alinham ao longo dos miotubos primários e começam a se fundir uns com os outros, formando miotubos secundários (STANDRING S., 2008). O tamanho do tecido muscular no animal adulto seria resultado da população de mioblastos neuro-dependentes que determinaria a razão de miotubos secundários e primários. A fibra muscular de cada espécie parece, então, estar relacionada com o número de miotubos primários e com a razão de miotubos secundários e primários na fibra muscular (OLIVEIRA, et al. 1999). Estudos com restrição nutricional materna mostraram o efeito negativo desta restrição sobre o desenvolvimento das fibras musculares uma vez que foi observada a redução no crescimento muscular e que estas alterações podem ser irreversíveis (WILSON et al., 1988; FAHEY et al., 2005). Estudo avaliando o efeito da restrição protéica materna sobre o desenvolvimento corpóreo em ratos mostrou uma redução no peso do músculo sóleo dos animais com 30 dias de idade (CABEÇO et al., 2012).

A nutrição exerce efeitos significativos sobre os hormônios fetais, nas interações dos hormônios e no metabolismo com o feto, a placenta e a mãe. Em geral, as condições intrauterinas adversas reduzem os níveis dos hormônios anabólicos e aumenta os níveis dos hormônios catabólicos no feto. Estas mudanças endócrinas afetam o crescimento e desenvolvimento fetal e a rota metabólica de nutrientes nos tecidos “feto-placentais” (FOWDEN, 1995). A subnutrição pode alterar a concentração dos hormônios maternos e fetais, como por exemplo, o hormônio do crescimento (GH), fator de crescimento semelhante à insulina (IGFs), insulina, glucorticóides, catecolaminas, leptina, hormônios da tireóide, e hormônios placentais como os eicosanóides, esteróides e lactogênio placentar (FOWDEN, et al. 2006). A insulina e o IGF fetal possuem papel central na regulação do crescimento e sofrem influências da nutrição fetal. Assim, quando a mãe sofre uma restrição nutricional durante a gestação ocorre uma redução nos níveis de insulina e IGF e também nos níveis de glicose sanguínea fetal, o que leva a uma reduzida transferência de aminoácidos e glicose para o feto reduzindo a sua taxa de crescimento (FOWDEN, 1989).

A restrição materna nutricional no período da lactação provocou a significativa redução do peso corpóreo ao desmame (grupos NR e RR) tanto em machos quanto em fêmeas, que pode ser explicado, em parte, pela quantidade e qualidade do leite materno das mães restritas. De fato, estudos mostram que a nutrição inadequada das mães nessa fase compromete a composição de seu leite, podendo levar ao menor desenvolvimento da ninhada (TIMOFEEVA

et al., 1999; BAUTISTA et al., 2008; COUPÉ et al., 2009). Uma redução no comprimento das vilosidades intestinais (GURMINI et al., 2005) prejudicando o processo de absorção dos nutrientes da dieta, pode também estar contribuindo para um menor peso dos filhotes cujas mães sofreram restrição no período da lactação.

Machos e fêmeas nascidas de mães restritas apenas na gestação apresentaram crescimento compensatório do nascimento ao desmame (grupo RN). Este crescimento compensatório não pode ser atribuído ao ganho de massa adiposa, uma vez que não foi observado aumento no índice de adiposidade nesses animais. Estes resultados são diferentes daqueles obtidos por Howie et al. (2012) que mostraram aumento na gordura corporal total em animais desmamados provenientes de mães que sofreram restrição nutricional de 30% somente na gestação. A nossa hipótese é de que o crescimento compensatório observado nestes animais esteja associado a um aumento da massa muscular. Segundo Bayol et al. (2004), o efeito da restrição nutricional materna moderada durante a gestação sobre o desenvolvimento tecido muscular pode ser revertido se as mães receberem nutrição normal durante o período da lactação. Outro fator que pode ter contribuído para o ganho compensatório é o aumento da massa óssea, como sugerida por Howie et al. (2012). Assim, podemos inferir que essa compensação no peso corpóreo em animais RN está relacionada com uma maior massa muscular e, provavelmente, a um aumento de massa óssea, embora este último não tenha sido avaliado no presente estudo.

A redução do peso do fígado observada ao desmame nos animais nascidos de mães que sofreram restrição nutricional na lactação e/ou na gestação (grupo RR e NR) bem como mudanças no metabolismo e glicose e de lipídios plasmáticos como triglicerídeos, LDL - colesterol e VLDL são indicativos de alterações do metabolismo energético. De fato, distúrbios no metabolismo hepático de glicose, assim como mudanças no metabolismo do colesterol, foram observados em ratos cujas mães receberam dietas com baixa proteína ou energia durante a gestação (GODFREY e BARKER, 2001). Estes pesquisadores associaram estas mudanças com alterações na circulação fetal, favorecendo o sistema nervoso central, e com isso, modificando o crescimento do fígado, e ao mesmo tempo afetando o metabolismo de lipídico e de glicose.

Os efeitos da restrição calórica materna na gestação e/ou lactação sobre o peso corpóreo da prole foram observados apenas nos machos, que apresentaram menor peso corpóreo com 16

semanas de idade. Os machos do grupo RR apresentaram baixa adiposidade no início da idade adulta que pode, em parte, explicar o baixo peso corpóreo nestes animais. Outro fator que deve ser considerado é o efeito da restrição calórica materna sobre o desenvolvimento do tecido muscular. De fato, efeitos da restrição nutricional materna sobre o desenvolvimento corpóreo da prole têm sido registrados. Estudos em ovinos mostraram que a restrição nutricional materna durante a gestação provocou retardo na taxa de crescimento da prole, que apresentou um menor peso do muscular esquelético bem como de órgãos internos como fígado, pulmão e coração (DANIEL et al., 2007). Rosario et al., (2011) demonstraram que a restrição de proteínas durante a gestação levou a uma redução de transportadores de aminoácidos na placenta, que associada à baixa disponibilidade de aminoácidos circulantes para o feto promoveram alterações funcionais e estruturais, que permaneceram até a vida adulta. No entanto, a restrição protéica materna na gestação não resultou em redução de peso corpóreo da prole adulta (16 semanas de idade) e um crescimento compensatório foi observado nos animais do período de 30 dias até 16 semanas de idade (CABEÇO et al., 2012).

No presente estudo a restrição calórica materna na gestação e/ou lactação não provocou redução no peso corpóreo das fêmeas no início da idade adulta. Palou et al. (2010b), estudando os efeitos da restrição calórica materna apenas na lactação, encontraram um menor peso corpóreo na prole adulta tanto em machos quanto em fêmeas, bem como um menor depósito de gordura, e explicam estes resultados, em parte, pela menor ingestão de alimentos. Estes pesquisadores sustentam a hipótese de que a restrição calórica moderada (30%) das mães na lactação protege a prole contra a obesidade bem como a resistência à insulina na idade adulta. Remmers et al. (2008), também mostraram peso corpóreo, depósito de gordura e consumo de alimentos reduzidos em machos e fêmeas sob restrição calórica durante a lactação. Em contraste, a restrição protéica das mães durante a lactação tem sido associada com o reduzido peso corpóreo, mesmo não tendo alteração do consumo de alimentos (De MOURA et al., 2007; De SOUZA et al., 2000 e FAGUNDES et al., 2007).

A restrição nutricional materna na gestação e na lactação resultou em um menor consumo de alimento nos animais machos (grupo RR) no período entre o desmame até o início da idade adulta (3 a 16 semanas). Esta redução, no entanto, não foi significativa. No estudo de Pinke (2013), que avaliou efeito da restrição materna nutricional moderada (30%) sobre o metabolismo energético da prole em ratos, encontrou uma redução no consumo dos animais

machos adultos. De forma semelhante, um menor consumo de alimento foi observado na prole de animais que sofreram restrição nutricional na gestação e na lactação (LUCAS et al., 1996 e TEIXEIRA et al., 2002).

Quando a restrição nutricional materna ocorreu somente na gestação ou na lactação, também não foi observada redução no consumo alimentar nos machos dos grupos NR e RN no período de 3 a 16 semanas de idade, e estes resultados estão de acordo com os obtidos por Zambrano et al. (2006) que, estudando ao efeito da restrição nutricional materna durante a gestação sobre a prole, reportaram uma ingestão normal de alimentos da prole adulta. No presente estudo, esta ingestão normal de alimento nesses animais pode ter contribuído para maior deposição de gordura corporal. No entanto, mesmo estes animais apresentando maior índice de adiposidade, se comparado com o grupo RR, o peso corpóreo ainda foi menor no início da idade adulta.

Os resultados de peso corporal quando tomados em conjunto são indicativos dos efeitos da restrição alimentar materna no desenvolvimento do tecido muscular, que são mantidas até o início da idade adulta. De fato, a programação fetal do músculo esquelético já foi demonstrada na prole em resposta à intervenção nutricional materna (FAHEY et al., 2005; MALLISON et al., 2007; TOSCANO et al., 2008). As alterações apresentadas no músculo esquelético são resultantes de mudanças na expressão dos genes relacionados ao processo de crescimento muscular (BAYOL et al., 2004; GICQUEL, et al. 2008; ZHENG et al., 2004). Além disso, nos animais do grupo RR, a redução na deposição de gordura observada em resposta à restrição nutricional materna também deve ser considerada, uma vez que estes animais apresentaram o menor índice de adiposidade. Então nestes animais tanto os efeitos da restrição alimentar sobre o desenvolvimento muscular quanto sobre a deposição de gordura devem ter contribuído para que apresentassem o menor peso corpóreo no início da vida adulta.

Um efeito da restrição materna na fase de desenvolvimento fetal sobre o tecido hepático em machos pode ser observado na redução de gordura nos hepatócitos ao desmame, que foi mantido até a idade adulta. Esta alteração no metabolismo hepático refletiu em menores teores de triglicerídeos e VLDL plasmáticos nestes animais, indicando um comprometimento do metabolismo lipídico. Efeitos da restrição nutricional materna sobre o metabolismo lipídico já foram observados. Berleze (2005) estudando o efeito da desnutrição materna durante a gestação e lactação em ratos observou redução nos teores de triglicerídeos plasmáticos na prole,

e atribuiu este resultado à síntese reduzida de apolipoproteína hepática, que entra na formação da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), responsável pelo transporte de triglicerídeos no plasma. Diferentemente do obtido neste estudo, um aumento nos depósitos de gordura retroperitoneal e gonadal foi observado em ratos machos e fêmeas nascidos de mães que sofreram restrição calórica severa (30% da ingestão *ad libitum*) durante a gestação (VICKERS et al., 2000 e 2001). Estes pesquisadores, no entanto, observaram o efeito da restrição materna sobre a deposição de gordura em animais com idade mais avançada (25 semanas de idade) que os do presente estudo (16 semanas), o que pode justificar a diferença nos resultados.

No presente estudo, as fêmeas nascidas de mães que sofreram restrição nutricional na gestação e/ou lactação, diferentemente dos machos, não apresentaram alteração na deposição de gordura hepática no início da idade adulta. Por outro lado, as maiores concentrações plasmáticas de VLDL observadas nos grupos RN e NR, bem como os menores teores encontrados nos animais do grupo RR são indicativos de ocorrência de alterações do metabolismo lipídico nestas fêmeas.

Dessa forma, as proles de ambos os sexos apresentaram alteração no metabolismo lipídico em decorrência da restrição materna moderada aplicada no período da gestação, da lactação ou em ambos. Além disso, esses animais, independente de sexo, apresentaram alterações nas concentrações dos lipídios plasmáticos desde o período do desmame até o início da idade adulta.

A nutrição inadequada na fase inicial da vida de um animal pode causar mudanças permanentes em órgãos-chaves responsáveis pela homeostase de glicose na idade adulta, como o fígado (HALES E BARKER, 1992). De fato, a desnutrição fetal pode alterar permanentemente o balanço de duas enzimas hepáticas, a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK) e a glicoquinase, envolvidas na síntese e quebra da glicose, respectivamente (BARKER, 1998). De fato, um aumento da atividade da PEPCK hepática e um decréscimo na atividade da glicoquinase (McMILLEN et al., 2005) foram observados. Esse aumento ou decréscimo na atividade destas enzimas pode estar relacionado a alterações na regulação da expressão gênica destas enzimas provocadas pela restrição nutricional (DESAI et al., 1997; PINHEIRO et al., 2013).

No presente estudo, os efeitos da restrição nutricional materna reduzindo os níveis de glicose observados nos animais com três semanas de idade, não foram mantidos nos animais

adultos. Em estudo realizado anteriormente também não foi observada alteração nos níveis glicêmicos de ratos machos nascidos de mães que sofreram restrição nutricional calórica materna na gestação e lactação. Entretanto, um aumento na expressão gênica do GLUT4, proteína transportadora de glicose, no tecido adiposo periepididimal de animais no início da idade adulta, além da redução na captação periférica de glicose, foram observados (PINKE et. al., 2013), mostrando o efeito da restrição nutricional materna sobre o metabolismo de glicose. Portanto, mesmo não havendo alteração no nível glicêmico dos animais, não pode ser descartada a hipótese de alteração no metabolismo de glicose decorrente da restrição nutricional materna.

Em conclusão, este estudo traz evidências dos efeitos da programação fetal através da restrição nutricional materna moderada sobre o crescimento do animal e seu metabolismo energético que permaneceram até o início da idade adulta. Este estudo também identificou diferenças nas respostas à restrição nutricional entre machos e fêmea, revelando que a programação fetal ocorre de maneira sexo-dependente e de modo mais pronunciado nos machos.

Referências Bibliográficas

- ARMITAGE, J. A. et al. Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: How strong is the evidence from experimental models in mammals. **J Physiol**, v.561, p.355-377, 2004. PMID: 15459241.
- BARKER, D. J.; OSMOND, C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. **Lancet**, v.1, p.1077-81, 1986. PMID: 2871345.
- BARKER, D. J. P. In utero programming of chronic disease. **Clin Sci**, v.95, p.115-128, 1998. PMID: 9680492.
- BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. **J Intern Med**, v.261, p.412-7, 2007. PMID: 17444880.
- BATESON, P. et al. Developmental plasticity and human health. **Nature**, v.430, p.419-21, 2004. PMID: 15269759.
- BATISTELLA, C. M.; DOMINGUES, J. L. Aspectos nutricionais e de manejo da obesidade em cães. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, p.201-205, 2005. Acessado em 08 mar. 2008. Disponível em: http://www.nutritime.com.br/Consultas2/022V2N3P201_205_MAI2005.pdf.
- BAUTISTA, C. J. et al. Effects of a maternal low protein isocaloric diet on milk leptin and progeny serum leptin concentration and appetitive behavior in the first 21 days of neonatal life in the rat. **Pediatr Res**, v. 63, p. 358-362, 2008. PMID: 18356739.
- BAYOL, S. et al. The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. **Br J Nutr**, v.91, p.331-339, 2004. PMID: 15005818.
- BAYOL, S. A. et al. A Maternal 'junk food' diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for 'junk food' and a greater propensity for obesity in rat offspring. **Br J Nutr**, v.98, p.843-851, 2007. PMID: 17697422.
- BELL, G. I. et al. Molecular biology of mammalian glucose transporters. **Diabetes Care**, v.13, p.198-208, 1990. PMID: 2407475.
- BENOIT, S. C. et al. **Recent Prog Horm Res**, v.59, p.267-285, 2004. PMID: 14749506.
- BERLEZE, K. J. Efeitos de diferentes dietas sobre o metabolismo de lipídeos e de carboidratos em ratas normonutridas e desnutridas. 2005. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Bioquímica/Bioquímica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2010.

BHARGAVA, S. K. et al. Relation of serial changes in childhood body-mass index to impaired glucose tolerance in young adulthood. **N Engl J Méd**, v.350, p.865-975, 2004. PMID: 14985484.

BOXWELL, J. et al. Growth and metabolic parameters in pups of undernourished lactating rats. **Physiol Behav**, v.57, p.469–475, 1995. PMID: 7753883.

BUCKLEY, A. J. et al. Nutritional programming of adult disease. **Cell Tissue Res**, v.322, p.73-79, 2005. PMID: 15846508.

CABEÇO, L. C. et al. Maternal protein restriction induce skeletal muscle changes without altering the MRFs MyoD and myogenin expression in offspring. **J Mol Histol**, v.43, p.461-71, 2012. PMID: 22538480

CLEGG, D. J. et al. Differential sensitivity to central leptin and insulin in male and female rats. **Diabetes**, v.52, p.682-687, 2003. PMID: 12606509.

CLEGG, D. J. et al. Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. **Diabetes**, v.55, p.978-987, 2006. PMID: 16567519.

COLLINS, S. Overview of clinical perspectives and mechanisms of obesity. **Birth Defects Res A Clin Mol Teratol**, v.73, p.470-471, 2005. PMID: 15959883.

COUPÉ, B. et al. The timing of “catch-up growth” affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intrauterine growth restriction. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.297, p.R813-R824, 2009. PMID: 19605764.

DEAN, D. J.; CARTEE, G. D. Calorie restriction increases insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of insulin receptor and insulin receptor substrate-1 in rat skeletal muscle. **Acta Physiol Scand**, v.169, p.133–139, 2000. PMID: 10848643.

DeFREITAS, M. S. et al. Up-regulation of phosphatidylinositol-3-kinase and glucose transporter 4 in muscle of rats subjected to maternal undernutrition. **Biochim Biophys Acta**, v.1639, p.8–16, 2003. PMID: 12943963.

DANIEL C. T. R. et al. Effect of maternal dietary restriction during pregnancy on lamb carcass characteristics and muscle fiber composition. **Z J Anim Sci**, v. 85, p.1565-1576, 2007. PMID: 17296773.

De MOURA, E. G. et al. Malnutrition during lactation changes growth hormone mRNA expression in offspring at weaning and in adulthood. **J Nutr Biochem**, v.18, p.134–9, 2007. PMID: 16781859.

DESAI, M. et al. Programming of hepatic insulin-sensitive enzymes in offspring of rat dams fed an isocaloric protein-restricted diet. **Am J Physiol**, v.272, p.G1083–G1090, 1997. PMID: 9176217.

De SOUZA CALDEIRA FILHO, J.; MOURA, A. S. Undernutrition during early lactation period induces metabolic imprinting leading to glucose homeostasis alteration in aged rats. **Res Commun Mol Pathol Pharmacol**, v.108, p.213–26, 2000. PMID: 11913713.

ENGELGAU, M. M. et al. Screening for type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.23, p.1563–1580, 2000. PMID: 11023153.

FAGUNDES, A. T. et al. Maternal low-protein diet during lactation programmes body composition and glucose homeostasis in the adult rat offspring. **Br J Nutr**, v.98, p.922–8, 2007. PMID: 17524178.

FAHEY, A. J. et al. The effect of maternal malnutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb. **J Anim Sci**, v.83, p.2564–2571, 2005. PMID: 16230653.

FLEGAL, K. M. et al. Cause-specific excess deaths associated with underweight, and obesity. **JAMA**, v.298, p.2028–2037, 2007. PMID: 17986696.

FOLCH, J. et al. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J Biol Chem**, v.226, p.497–509, 1957. PMID: 13428781.

FONTAINE, K. R. et al. Years of Life lost due to Obesity. **JAMA**, v.289, p.187–193, 2003. PMID: 12517229.

FOWDEN, A. L. The role of insulin in prenatal growth. **J Dev Physiol**, v.12, p.173–182, 1989. PMID: 1396233.

FOWDEN, A. L. Endocrine regulation of fetal growth. **Reprod Fertil Dev**, v.7, p.351–363, 1995. PMID: 8606944.

FOWDEN, A. L. et al. Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences. **Physiology (Bethesda)**, v.21, p.29–37, 2006. PMID: 16443820.

FRIEDEWALD, W. T. et al. Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. **Clin Chem**, v.18, p.449–502, 1972. PMID: 4337382.

GICQUEL, C. et al. Epigenetic regulation and fetal programming. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v.22, p.1–16, 2008. PMID: 18279777.

GODFREY, K. M.; BARKER, D. J. P. Fetal programming and adult health. **Public Health Nutr**, v.4, p.611±624, 2001. PMID: 11683554.

GUILLOTEAU, P. et al. Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments. **J Physiol Pharmacol**, v.60, p.17–35, 2009. PMID: 19996479.

GURMINI, J. et al. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após lactação. **J Brás Patol Méd Lab**, v.41, p.271-278, 2005.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. Efectos de la malnutrición in útero y en la lactancia sobre diversos parámetros del intestino delgado de rata. **Rev Esp Fisiol**, v.44, p.413-21, 1988.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v.35, p.595–601, 1992. PMID: 1644236.

HALL, J. E. Mechanisms of abnormal renal sodium handling in obesity hypertension. **Am J Hypertens**, v.10, p.49S-55, 1997. PMID: 9160781.

HALPERN, Z. S. C. et al. Determinantes fisiológicos do controle de peso e appetite. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v.31, n.4, p.150-153, 2004.

HOWIE, G. J. et al. Maternal undernutrition during critical windows of development results in differential and sexspecific effects on postnatal adiposity and related metabolic profiles in adult rat offspring. **Br J Nutr**, v. 108, p.298-307, 2012. PMID: 22018052.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Antropometria e análise do estado nutricional de crianças e adolescentes no Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiares, 2003, 140 p.

JAMES, D. E. et al. Molecular cloning and characterization of an insulin-regulatable glucose transporter. **Nature**, v.338, p.83–87, 1989. PMID: 2645527.

JANSEN, G. R. et al. Studies in lipogenesis in vivo. Fatty acid and cholesterol synthesis during starvation and refeeding. **Biochem J**, v.101, p.811-818, 1966. PMID: 16742461.

JONES, R. H.; OZANNE, S. E. F. Fetal programming of glucose-insulin metabolism. **Mol Cell Endocrinol**, v.297, p.4-9, 2009. PMID: 18662742.

KEITH, S. W. et al. Putative contributors to the secular increase in obesity: exploring the roads less traveled. **Int J Obes**, v.30, p.1585-1594, 2006. PMID: 16801930.

KOPELMAN, P. G.; ALBON, L. Obesity, non-insulin-dependent diabetes mellitus and the metabolic syndrome. **Br Med Bull**, v.53, p.322-340, 1997. PMID: 9246839.

KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v.404, p.635-643, 2000. PMID: 10766250.

KUNIYOSHI, F. H. S. et al. Abnormal neurovascular control during sympathoexcitation in obesity. **Obesity Res**, v.11, p.1411-1419, 2003. PMID: 14627763.

LANHAM, S. A. et al. Maternal high-fat diet: effects on offspring bone structure. **Osteoporos Int**, v.21, p.1703–1714, 2010. PMID: 19936867.

LEANDRO, C. G. et al. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. **Eur J Nutr**, v. 51, p. 807-15, 2012. PMID: 22038463.

LIMA, R. M. Obesidade: o mal do século. Revista Perspectivas, Campos do Goytacazes/RJ, v.4, p.86-99, 2005.

LUCAS, A. et al. Nutrition in pregnant or lactating rats programs lipid metabolism in the offspring. **Br J Nutr**, v.76, p.605–612, 1996. PMID: 8942366.

MAIANU, L. et al. Adipocytes exhibit abnormal subcellular distribution and translocation of vesicles containing glucose transporter 4 and insulin regulated amino-peptidase in type 2 diabetes mellitus: implications regarding defects in vesicle trafficking. **J Clin Endocrinol Metab**, v.86, p.5450–5456, 2001. PMID: 11701721.

MALLISON, J. et al. Fetal exposure to a maternal low-protein diet during mid-gestation results in muscle-specific effects on fibre type composition in young rats. **Br J Nutri**, v. 98, p. 292-299, 2007. PMID: 17391556.

MALNICK, S. D.; KNOBLER H. The medical complications of obesity. **QJM**, v.99, p.565-579, 2006. PMID: 16916862.

MARTINS, R. M. A. Origens fetais de doenças do adulto – revisão etiopatogênica da doença mais investigada: diabetes mellitus tipo II. 2009. 34f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) - Universidade do Porto, Portugal. 2010.

McMILLEN, C.; ROBINSON, J. S. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity and programming. **Physiol Rev**, v.85, p.571-633, 2005. PMID: 15788706.

NEEL, J. V. Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? **Am J Hum Genet**, v.14, p.353–62, 1962. PMID: 13937884.

NÜSKEN, K. D; et al. Fetal programming of gene expression in growth-restricted rats depends on the cause of low birth weight. **Endocrinology**, v.152, p.1327-1335, 2011. PMID: 21266509.

O'BRIEN, P. E.; DIXON, J. B. The extend of the problem of obesity. **Am J Surg**, v.184, p.4S-8, 2002. PMID: 12527343.

ODGEN, C. L. et al. Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000. **JAMA**, v.288, p.1728-1732, 2002. PMID: 12365956.

ODGEN, C. L. et al. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. **JAMA**, v.295, p.1549-1555, 2006. PMID: 16595758.

OLIVEIRA, F. L. et al. Intrauterine energetic malnutrition in rats: muscle skeletal changes in the 1st and 2nd generations. **J Pediatr**, v.75, p.350-356, 1999. PMID: 14685513.

PAULA, F. J. A.; ROSEN, C. J. Obesity, diabetes mellitus and last but not least, osteoporosis. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v.54, p.150-157, 2010. PMID: 20485903.

PALOU, M. et al. Sexual dimorphism in the lasting effects of moderate caloric restriction during gestation on energy homeostasis in rats is related with fetal programming of insulin and leptin resistance. **Nutr Metab**, v.7, p.69, 2010a PMID: 20796266.

PALOU, M. et al. Moderate caloric restriction in lactating rats protects offspring against obesity and insulin resistance in later life. **Endocrinology**, v.151, p.1030-1041, 2010b. PMID: 20068006.

PAWLOSKI, C. M. et al. Obese Zucker rats are normotensive on normal and increased sodium intake. **Hypertens**, v.19, p.190-195, 1992. PMID: 1730461.

PEREIRA, Luciana O. et al. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.47, p.111-127, 2003.

PICONE, O. et al. Hyperlipidic hypercholesterolemic diet in prepubertal rabbits affects gene expression in the embryo, restricts fetal growth and increases offspring susceptibility to obesity. **Theriogenology**, v.75, p.287-299, 2011. PMID: 21040967.

PINHEIRO, D. F. et al. Maternal protein restriction affects gene expression and enzyme activity of intestinal disaccharidases in adult rat offspring. **Braz J Med Biol Res**, v.15, p.287-292, 2013. PMID: 23532268.

PINKE, C. A. E. Mecanismos moleculares na interação da leptina e insulina com a obesidade. 2008. 42f. Monografia (Pós-graduação Latu sensu em Nutrição e Alimentação de Cães e Gatos/Especialização em Nutrição e Alimentação de Cães e Gatos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2008.

PINKE, C. A. E. et al. Efeito da dieta hiperlipídica na programação fetal do metabolismo energético e atividade de enzimas digestivas em ratos. 2013. 90f. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ) - Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu. 2013.

POIRIER, P. et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. **Circulation**, v.113, p.898-918, 2006. PMID: 16627822.

RAO, R. K. e al. M. Maternal micronutrient restriction programs the body adiposity, adipocyte function and lipid metabolism in offspring: a review. **Rev Endocr Metab Disord**, v.13, p.103-108, 2012. PMID: 22430228.

Remmers, F. et al. Neonatal food restriction permanently alters rat body dimensions and energy intake. **Physiol Behav**, v.3, p.208-215, 2008. PMID: 18588905.

REMMERS F.; DELEMARRE-VAN DE WAAL H. A. Developmental programming of energy balance and its hypothalamic regulation. **Endocr Rev**, v.32, p.272–311, 2011. PMID: 21051592.

RINAUDO, P.; WANG, E. Fetal programming and metabolic syndrome. **Annu Rev Physiol**, v. 74, p.107–30, 2012. PMID: 21910625.

ROLLS, B. J.; SHIDE, D. J. The influence of dietary on food intake and body weight. **Nutr Rev**, v.5, p.283-290, 1992. PMID: 1436763.

ROSARIO, F. J. et al. Maternal protein restriction in the rat inhibits placental insulin, mTOR, and STAT3 signaling and down-regulates placental amino acid transporters. **Endocrinology** v.152, p.1119–1129, 2011. PMID: 21285325.

ROSS, M. G.; DESAI, M. Gestacional programming: population survival effects of drought and famine during pregnancy. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.288, p.R25-R33, 2005. PMID: 15590994.

SAHU, A. Minireview: a hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin. **Endocrinology**, v.145, p.2613-2620, 2004. PMID: 15044360.

SCHWARTZ, M. W. et al. Central nervous system control of food intake. **Nature**, v.404, p.661-671, 2000. PMID: 10766253.

SEKI, Y. et al. Minireview: epigenetic programming of diabetes and obesity: animal models. **Endocrinology**, v. 153, p. 1031–1038, 2012. PMID: 22253432.

SEVILLA, L. et al. Chronic high-fat feeding and middle-aging reduce in an additive fashion glut4 expression in skeletal muscle and adipose tissue. **Biochem Biophys Res Commun**, v.235, p.89-93, 1997. PMID: 9196041.

SHEPHERD, P. R.; KAHN, B. B. Glucose transporters and insulin action: implications for insulin resistance and diabetes mellitus. **N Engl J Med**, v.341, p.248–257, 1999. PMID: 10413738.

SHRADER, R. E.; ZEMAN, F. J. Effect of maternal protein deprivation on morphological and enzymatic development of neonatal rat tissue. **J Nutr**, v.99, p.401-421, 1969. PMID: 4391282.

STANDRING, Susan. Section 1 – cells, tissues and systems: Chapter 5, Functional anatomy of the musculoskeletal system. In STANDRING, Susan; WIGLEY, Caroline (Eds). *Gray's Anatomy*. London: Churchill Livingstone, 2008.

Stenbit, A. E. et al. GLUT4 heterozygous knockout mice develop muscle insulin resistance and diabetes. **Nat Med**, v.3, p.1096-101, 1997. PMID: 9334720.

TAKANO, J. Intestinal changes in protein-deficient rats. **Exp Mol Path**, v.3, p.224-231, 1964.

TAMASHIRO, K. L. K.; MORAN, T. H. Perinatal environment and its influences on metabolic programming of offspring. **Physiol Behav**, v.100, p.560-566, 2010. PMID: 20394764.

TEIXEIRA, C. et al. Leptin serum concentration, food intake and body weight in rats whose mothers were exposed to malnutrition during lactation. **J Nutr Biochem**, v.13, p.493–498, 2002. PMID: 12165362.

TIMOFEEVA, N. M. et al. Effect of protein deficiency in female rats diet during pregnancy and lactation on the activity of membranes and soluble forms of digestive enzyme in small intestine of the rat pups. **Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova**, v.85, p.1567-1573, 1999. PMID: 10687193.

TIMOFEEVA, N. M. et al. Quality of nutrition during pregnancy or lactation programs functioning of enzyme systems of digestive and non-digestive organs in “grandchildren” during their adult life. **Zh Evol Biokhim Fiziol**, v.44, p.254-257, 2008. PMID: 18669287.

TOSCANO, A. E. et al. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. **Nutrition**, v.24, p.270-278, 2008. PMID: 18312789.

VARVARIGOU, A. A. Intrauterine growth restriction as a potential risk factor for disease onset in adulthood. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v.23, p.215-224, 2010. PMID: 20480719.

VEIGA, A. P. M. Obesidade e diabetes mellitus em pequenos animais. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA E VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL. 2., 2005, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005, p. 82 – 91.

VELKOSKA, E. et al. Early undernutrition leads to long-lasting reductions in body weight and adiposity whereas increased intake increases cardiac fibrosis in male rats. **J Nutr**, v.138, p.1622-1627, 2008. PMID: 18716160.

VICKERS, M. H. et al. Fetal origins of hyperphagia, obesity and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.279, p.E83-E87, 2000. PMID: 10893326.

VICKERS, M. H. et al. Dysregulation of the adipoinular axis-a mechanism for the pathogenesis of hyperleptinemia and adipogenic diabetes induced by fetal programming. **J Endocrinol**, v. 170, p. 323-332, 2001. PMID: 11479129.

VICKERS, M. H. et al. Sedentary behavior during postnatal life is determined by the prenatal environment and exacerbated by postnatal hypercaloric nutrition. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.285, p. R271-R273, 2003. PMID: 12794001.

ZAMBRANO, E. et al. A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. **J Physiol**, v.571, p.221-30, 2006. PMID: 16339179.

ZHENG, S. et al. Maternal protein restriction during pregnancy induces CCAAT/enhancer-binding protein (c/EBP β) expression through the regulation of histone modification at its promoter region in female offspring rat skeletal muscle. **Epigenetics**, v.6, p.1968-1973, 2004. PMID: 20930553.

WILLIAM, W. H. Jr. Recent observations on the regulation of fetal metabolism by glucose. **J Physiol**, v.572, p.17-24, 2006.

Wilson, S. J. et al. A critical period for formation of secondary myotubes defined by prenatal undernourishment in rats. **Development** v.102, p.815-821, 1988. PMID: 3168790.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and Overweight. Acessado em 10/082013. Extraído de: <http://www.who.int/en/>

WOODS, S. C. et al. Clinical endocrinology and metabolism. Regulation of energy homeostasis by peripheral signals. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v.18, p.497-515, 2004. PMID: 15533772.