UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

ERIKA VANESA CADENA BURBANO

DIETAS HIPERLIPÍDICAS MATERNA: REPERCUSSÕES SOBRE A ONTOGENIA DE REFLEXOS E DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DA PROLE DE RATOS

RECIFE
2017

ERIKA VANESA CADENA BURBANO

DIETAS HIPERLIPÍDICAS MATERNA: REPERCUSSÕES SOBRE A ONTOGENIA DE REFLEXOS E DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DA PROLE DE RATOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do Título de Mestre em Nutrição. Área de concentração: Bases Experimentais da Nutrição.

Orientadora: Profª. Drª. Raquel da Silva Aragão. Professora Adjunta C-I do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão CAV-UFPE.

RECIFE
2017

Catalogação na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

B946d Burbano, Erika Vanesa Cadena.
Dietas hiperlipídicas materna: repercussões sobre a ontogenia de reflexos e da atividade locomotora da prole de ratos / Erika Vanesa Cadena Burbano. – 2017.
81 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Raquel da Silva Aragão.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2017.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Exposição materna. 2. Dieta hiperlipídica. 3. Crescimento e desenvolvimento. 4. Atividade locomotora. I. Aragão, Raquel da Silva (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-077)

ERIKA VANESA CADENA BURBANO

DIETAS HIPERLIPÍDICAS MATERNA: REPERCUSSÕES SOBRE A ONTOGENIA DE REFLEXOS E DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DA PROLE DE RATOS

Dissertação aprovada em 24/02/2017

_____

Prof. Dr. Raul Manhães de Castro

Departamento de Nutrição / UFPE

_____

Profª Drª. Elizabeth do Nascimento

Departamento de Nutrição / UFPE

_____

Prof. Dr. José Antônio dos Santos

Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte - CAV / UFPE

RECIFE

2017

Dedico este trabalho a meu esposo Fábio por seu amor e apoio incondicional, a meus pais Jorge e Inés por serem exemplos de trabalho e de responsabilidade, a os meus irmãos Andrea e Jorge por seu carinho sincero e as minhas sobrinhas Valentina e Romina por serem a alegria do meu coração.

Agradecimentos

*Primeiramente, agradeço a **Deus** por nunca soltar-me de sua mão e por me permitir alcançar um objetivo a mais em minha vida.*

*A meu esposo **Fábio** por sua compreensão durante todo este período, a **minha família do Equador** que a pesar da distância sempre me deu seu apoio.*

*À minha orientadora, **Profª. Drª. Raquel Aragão** por aceitar ser minha orientadora, por sua imensa paciência e por compartilhar seus conhecimentos. Admiro muito seu trabalho como professora e pesquisadora, assim como sua simplicidade.*

*Ao **Prof. Dr. Raul Manhães** pela oportunidade de formar parte de seu grupo de pesquisa, a quem respeito e admiro muito.*

*Ao veterinário **Dr. Edeones França**, por seus ensinamentos no manuseio dos animais.*

*Às minhas queridas colegas de trabalho, especialmente a **Carol Cadete**, por sua ajuda durante todo o processo experimental, sem sua colaboração não conseguiria chegar até aqui. Também agradeço a **Jéssica Fragoso** por seus ensinamentos e ajuda. A **Thaynan Oliveira**, **Jacqueline Silva** e **Tássia Borba**, pelo companheirismo e espírito de equipe.*

*Às estagiárias **Amanda Braz** e **Raquel Benjamim** por sua colaboração e dedicação e a todos os colegas do laboratório que de uma ou outra maneira me ajudaram durante o desenvolvimento deste trabalho.*

*Aos meus queridos colegas de mestrado, **Carol**, **Débora**, **Maryane**, **Daniela**, **Camila**, **Mariana** e **Rafael**.*

*Ao pessoal do Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética (LNED), em especial à **Profª. Drª. Débora Pessoa** e a **Técnica Ana França** pela ajuda no desenvolvimento das dietas.*

*À **Coordenação da Pós-Graduação em Nutrição** e as secretarias **Neci** e **Cecília** pela disponibilidade e orientação aos mestrandos.*

*Ao **Instituto Ecuatoriano de Crédito Educativo y Becas (IECE)**, pela subvenção econômica.*

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar, na prole, as repercussões das dietas hiperlipídicas materna isocalórica ou hipercalórica sobre a ontogenia de reflexos e da atividade locomotora. Foram utilizadas 29 ratas fêmeas da linhagem *Wistar*. Classificadas de acordo com a dieta recebida durante a gestação e lactação em: Grupo Controle (C, n=11), Grupo Hiperlipídica/Isocalórica (HI, n=9), Grupo Hiperlipídica/Hipercalórica (HH, n=9). Cada ninhada foi formada pela mãe e 8 filhotes. Somente os filhotes machos foram avaliados. Do 1º ao 21º dia pós-natal, a prole foi avaliada quanto a reflexos, características físicas e crescimento somático. Os animais foram filmados no 8º, 14º, 17º, 21º, 30º, 45º e 60º dia pós-natal, em campo aberto durante 5 minutos. Após o desmame a prole recebeu dieta padrão de laboratório e o peso corporal continuou sendo avaliado até o fim do experimento. Durante os períodos de gestação e lactação as mães HH apresentaram menor consumo alimentar em gramas em relação aos grupos C e HI. A taxa de conversão alimentar foi maior nas mães HH em relação aos grupos C e HI na gestação. No mesmo período, foi observada maior eficiência energética em ambos os grupos hiperlipídicos em relação ao grupo C. Contudo, durante a lactação o grupo de mães HH apresentou menor conversão alimentar em relação ao grupo C. Não foram observadas diferenças no consumo energético nem no ganho de peso entre os grupos experimentais. Quanto à prole, o grupo HH teve maior peso corporal, eixo longitudinal, comprimento da cauda, assim como, maior comprimento dos eixos látero-lateral e ântero-posterior do crânio no fim da lactação. Houve antecipação da abertura do pavilhão auditivo e atraso na maturação dos reflexos de preensão palmar e aversão ao precipício nos animais HH. Após o desmame, do 30º ao 45º dia pós-natal, a prole HH teve menor porcentagem de ganho de peso em relação à prole HI. Em relação à atividade locomotora, foi possível observar mudanças no desenvolvimento dos padrões de movimento dos animais HH e HI em alguns dos parâmetros avaliados. Quando comparados entre os grupos, os animais HH apresentaram maior distância percorrida no fim da lactação, assim como, maior potência média, velocidade média e gasto energético no 60º dia, em relação ao grupo HI e/ou C. Desta forma, a prole HH teve melhor desempenho locomotor no fim da lactação e da adolescência. Em resumo, pudemos observar que a prole cujas mães receberam dieta hiperlipídica hipercalórica na gestação e lactação apresentou antecipação na maturação de caraterísticas físicas e atraso na ontogenia de reflexos. Contudo, no fim da lactação, a prole HH apresentou maior crescimento somático, assim como, melhor desempenho locomotor, o mesmo que foi evidenciado também no fim da adolescência.

Palavras-chave: Exposição Materna. Dieta Hiperlipídica. Crescimento e Desenvolvimento. Atividade Locomotora.

Abstract

The aim of this study was to evaluate repercussions of high-fat/isocaloric or high-fat/high-caloric maternal diets on reflexes ontogeny and locomotor activity in offspring. Twenty-nine female Wistar rats were used. Dams were classified according to diet received throughout gestation and lactation periods: Control group (C, n=11); High-fat/Isocaloric group (HI, n=9), High-fat/high-caloric group (HH, n=9). Mother and 8 pups formed each litter. Only male offspring were evaluated. From the 1st to the 21st postnatal day, offspring were evaluated in relation to physical features maturation, somatic growth and reflexes ontogeny. Pups were filmed on the 8th, 14th, 17th, 21st, 30th, 45th and 60th postnatal day, in open field for 5 minutes. After weaning offspring received standard laboratory diet and body weight was evaluated until the end of experiments. During the gestation and lactation periods, HH mothers had lower food intake in grams than the C and HI groups. The feed conversion rate was higher in HH mothers than in the C and HI groups at gestation. In the same period, greater energy efficiency was observed in both high-fat groups in relation to the control group. However, during lactation the group of HH mothers presented lower feed conversion than the C group. There were no differences in energy consumption or weight gain between the experimental groups. As for the offspring, the HH group had a higher body weight and length, tail length, as well as higher laterolateral and anteroposterior axes of the head at the end of lactation. There was ear unfolding anticipation and delayed palmar grasp and cliff avoidance maturation in HH animals. After weaning, from 30th to 45th postnatal day, HH offspring had a lower percentage of weight gain than HI offspring. Regarding locomotor activity, it was possible to observe changes in movement patterns of HH and HI animals in some of the evaluated parameters. When comparing the groups, the HH animals showed higher distance travelled at the end of lactation, as well as higher average speed, average potency and kinetic energy at 60th, in relation to HI and/or C groups. Thus, HH offspring had better locomotor performance at the end of lactation and adolescence. In summary, we could observe that offspring whose mothers received a high-fat/high-caloric diet during pregnancy and lactation presented physical characteristics maturation anticipation and delay in primitive reflexes ontogeny. However, at the end of lactation the HH offspring presented higher somatic growth, as well as better locomotor performance in late adolescence.

Keywords: Maternal Exposure. Diet, High-Fat. Growth and Development. Motor Activity.

Lista de tabelas e figuras

Tabela 1 – Composição centesimal das dietas experimentais. 28
Tabela 2 – Composição de macronutrientes das dietas segundo o Valor Energético Total (VET). 29
Tabela 3 – Composição de macronutrientes da dieta pós desmame. 29
Tabela 4 – Efeitos das dietas hiperlipídicas materna sobre parâmetros ponderais e nutricionais durante diferentes períodos perinatais. 37
Tabela 5 – Desenvolvimento das características físicas da prole de ratos machos durante o período de lactação. 43
Tabela 6 – Ontogenia de reflexos da prole durante o período de lactação. 44

Figura 1 – Esquema de formação dos grupos experimentais. 27
Figura 2 – Consumo alimentar, energético e de macronutrientes durante a gestação e lactação. 39
Figura 3 – Peso corporal, porcentagem de ganho de peso e taxa específica de ganho de peso da prole de ratos durante o período de lactação. 40
Figura 4 – Peso corporal e porcentagem de ganho de peso da prole de ratos após o desmame. 41
Figura 5 – Evolução do crescimento somático de ratos machos durante o período de lactação. 42
Figura 6 – Maturação motora da prole de ratos durante o período de aleitamento. 44
Figura 7 – Efeitos da dieta hiperlipídica isocalórica e hiperlipídica hipercalórica sobre os parâmetros da atividade locomotora. 47
Figura 8 – Efeitos da dieta hiperlipídica isocalórica e hiperlipídica hipercalórica sobre o tempo de permanência em cada área do campo aberto. 48

Lista de abreviaturas

AA: ácido araquidônico

AGPICL: ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa

AGS: ácidos graxos saturados

AGT: ácidos graxos *trans*

C: controle

CA: conversão alimentar

DHA: ácido docosahexaenóico

DPN: dia pós-natal

EE: eficiência energética

HI: hiperlipídico isocalórico

HH: hiperlipídico hipercalórico

SNC: sistema nervoso central

Sumário

1 INTRODUÇÃO 11
2 REVISÃO DA LITERATURA 13
2.1 Plasticidade e desenvolvimento 13
2.2 Desenvolvimento motor 15
2.3 Lipídeos na dieta materna e desenvolvimento da prole 18
2.4 Manipulações nutricionais e repercussões na locomoção 21
3 HIPÓTESE 24
4 OBJETIVOS 25
4.1 Geral 25
4.2 Específicos 25
5 MÉTODOS 26
5.1 Questões éticas 26
5.2 Animais 26
5.3 Desenho experimental 27
5.4 Dietas 28
5.5 Avaliação das mães 30
5.5.1 *Avaliação murinométrica* 30
5.5.2 *Consumo dietético* 30
5.6 Avaliação da prole 31
5.6.1 *Crescimento somático* 31
5.6.2 *Características físicas* 32
5.6.3 *Ontogenia de reflexos* 32
5.6.4 *Maturação motora* 34
5.6.5 *Atividade locomotora* 34
5.7 Análise estatística 36
6 RESULTADOS 37
7 DISCUSSÃO 49
8 CONCLUSÃO 66
8.1 Perspectivas 67
REFERÊNCIAS 68
APÊNDICE A – ARTIGO ORIGINAL 78
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA 80
ANEXO B – ANÁLISE DE RAÇÃO 81

1 INTRODUÇÃO

Em humanos, nos períodos iniciais da vida, como na gestação, lactação e primeira infância, os órgãos e tecidos apresentam fases de rápida hiperplasia, hipertrofia e diferenciação celular e, por isso, são denominados de períodos críticos para o desenvolvimento (WINICK, 1969; MORGANE et al., 1993). Neste período, estímulos ambientais, como a nutrição, irão atuar nos processos de desenvolvimento do organismo podendo alterar parcial ou totalmente seu padrão pré-estabelecido (GLUCKMAN, HANSON e PINAL, 2005). Por conseguinte, modificam a trajetória de crescimento e desenvolvimento através de processos adaptativos resultantes da plasticidade apresentada pelo organismo neste período (GLUCKMAN, HANSON e PINAL, 2005; WEST-EBERHARD, 2005) em resposta ao ambiente nutricional (HALES e BARKER, 1992).

A nutrição é um fator ambiental que possibilita um adequado crescimento e desenvolvimento do organismo em todas as espécies (MORGANE et al., 1993; WALKER, 2005). A falta ou o aumento quantitativo do aporte nutricional durante períodos críticos do desenvolvimento podem induzir alterações permanentes na estrutura e função dos sistemas fisiológicos, como o músculo esquelético (OZANNE e HALES, 2004). Recentemente, alguns estudos têm demonstrado que alterações na composição dietética durante a gestação e lactação, como o aumento no consumo de lipídeos e alta ingestão calórica podem comprometer o desenvolvimento estrutural e funcional do músculo esquelético (BAYOL, SIMBI e STICKLAND, 2005; BAYOL, BRUCE e WADLEY, 2014). Por conseguinte, prejudicando o desenvolvimento motor da prole (BAYOL, SIMBI e STICKLAND, 2005).

O desenvolvimento motor segue uma sequência pré-determinada e característica nas diferentes espécies (MUIR, 2000) e ocorre de maneira coordenada, sendo necessárias integridade, maturação e integração entre sistema nervoso central (SNC) e sistema músculo-esquelético (FOX, 1965; GRAMSBERGEN, 1998), podendo ser acompanhado a partir da análise de reflexos e aquisição de habilidades motoras (FOX, 1965).

Estudos atuais têm investigado os efeitos do consumo materno de diferentes tipos de dieta hiperlipídica, durante a gestação e/ou lactação e seus efeitos no desenvolvimento do sistema nervoso, avaliado através da ontogenia de reflexos (SOARES et al., 2009; GIRIKO et al., 2013; MENDES-DA-SILVA et al., 2014). Tais estudos mostram atraso na maturação de reflexos. Em contrapartida, estudos com dieta materna rica em ácidos graxos poliinsaturados (óleo de soja e girassol) e dieta ocidentalizada, respectivamente, tem observado antecipação na maturação de reflexos (SANTILLAN et al., 2010; FERRO CAVALCANTE et al., 2013). No entanto, após a revisão da literatura não fica claro se os efeitos no desenvolvimento da prole estariam relacionados com o elevado aporte do lipídeo e/ou calórico da dieta,.

Portanto, a pergunta condutora que norteou esta pesquisa foi: “Quais os efeitos das dietas hiperlipídicas materna com diferente aporte calórico sobre a ontogenia de reflexos e da atividade locomotora da prole de ratos?”. O presente estudo teve como objetivo avaliar, na prole, as repercussões das dietas hiperlipídicas materna isocalórica ou hipercalórica sobre a ontogenia de reflexos e da atividade locomotora. Nossa hipótese é que a dieta hiperlipídica materna (gestação e lactação) causa atraso na maturação de reflexos e, consequentemente, no desenvolvimento da locomoção da prole independente do aporte calórico da dieta.

A pesquisa foi desenvolvida em colaboração com os laboratórios da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE): Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT), Laboratório de Estudos em Nutrição e Instrumentação Biomédica (LENIB), Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética (LNED), e o Laboratório de Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica do Centro Acadêmico de Vitória (CAV), tendo como orientadora a Profª. Drª. Raquel da Silva Aragão.

Este estudo concluiu com a elaboração de um artigo original intitulado como ***“Maternal high-fat/high-caloric diet delays reflexes ontogeny during lactation but enhances locomotor performance in late adolescence in rats”.***

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Plasticidade e desenvolvimento

Dobbing (1965) formulou o conceito de “período crítico do desenvolvimento” que corresponde às janelas de tempo onde os tecidos e órgãos são susceptíveis a injúrias, desenvolvendo alterações permanentes na estrutura e função. Em seu trabalho, Dobbing focou-se no período crítico para o desenvolvimento do sistema nervoso central, porém, hoje se sabe que todos os sistemas apresentam períodos de rápida proliferação e diferenciação celular onde estão mais vulneráveis a insultos ambientais (DOBBING, 1965). Esses períodos críticos para o desenvolvimento correspondem, no homem, à gestação, lactação e primeira infância (MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002) onde órgãos e sistemas do corpo apresentam grande plasticidade (BARKER, 2003).

No humano, o desenvolvimento do SNC caracteriza-se por eventos que ocorrem desde o primeiro trimestre de gestação até o início do segundo ano de vida (MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002). Considerando a curva de crescimento cerebral, podemos observar que a maior taxa de mudanças ocorre, no homem, do último trimestre de gestação ao segundo semestre pós-natal (MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002). No rato, o desenvolvimento do SNC segue o mesmo perfil de maturação, sendo observadas diferenças em relação aos humanos apenas no período em que cada estágio acontece (MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002). Por exemplo, no rato, a maior velocidade de modificações durante a maturação do SNC ocorre nas três primeiras semanas após o parto (MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002).

A plasticidade do desenvolvimento é definida como o fenômeno pelo qual um genótipo pode dar origem a diferentes estados fisiológicos ou morfológicos em resposta a diferentes condições ambientais durante o desenvolvimento (WEST-EBERHARD, 2005). Dessa forma, a plasticidade do desenvolvimento permite ao organismo em formação modificar sua trajetória de crescimento e desenvolvimento através de processos adaptativos (GLUCKMAN, HANSON e PINAL, 2005).

A falta ou deficiência, e mais recentemente o excesso de nutrientes no período fetal e na infância predispõe o individuo adulto a doenças cardiovasculares e diabetes tipo II, ou aos fatores de risco associados, como a hipertensão, a intolerância à glicose e a hiperlipidemia (ARMITAGE et al., 2004; ARMITAGE, TAYLOR e POSTON, 2005; BARKER, 2007; TAYLOR e POSTON, 2007). O organismo em desenvolvimento se adapta às condições de baixo aporte nutricional, modificando seu metabolismo no sentido de melhorar o aproveitamento energético e aumentar a capacidade de armazenar energia (HALES e BARKER, 1992). Esta hipótese foi denominada a hipótese do fenótipo poupador segundo Hales e Barker .

Contudo, Wells (2010) propôs um novo modelo para explicar a relação entre o ambiente perinatal, a trajetória de desenvolvimento do indivíduo e o aparecimento de doenças na vida adulta. Este modelo é constituído de dois componentes de fenótipo metabólico: “capacidade metabólica” que seria representada pelo peso ao nascer e “carga metabólica” que seria a trajetória de crescimento podendo ser representado pelo ganho de peso, estatura, massa gorda ou massa magra (WELLS, 2010). Por conseguinte, o risco do aparecimento da síndrome metabólica e doença cardiovascular podem ser atribuídos à razão de carga metabólica para capacidade metabólica (WELLS, 2010). Por exemplo, Wells (2010) observou crianças que nascem com baixo peso corporal (ou seja, baixa capacidade metabólica) e que tem crescimento acelerado (ou seja, alta carga metabólica), possuem grande carga sobre uma pequena capacidade, e essa incompatibilidade estaria relacionada com a prevalência de doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta.

Tanto a hipótese do fenótipo poupador (*thrifty phenotype hypothesis*) quanto o modelo de capacidade-carga metabólica estão inseridos na “Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença” ou, em termos mais amplos, na “Plasticidade Fenotípica”. Os processos envolvidos nesse fenômeno ainda não estão totalmente esclarecidos, mas parecem estar relacionados a mecanismos epigenéticos (GLUCKMAN, HANSON e PINAL, 2005; HANSON e GLUCKMAN, 2011). Os efeitos epigenéticos são gerados por meio de modificações químicas sobre as proteínas histonas e o DNA que compõem a cromatina, com consequente efeito sobre a expressão de genes (WELLS, 2010). Este processo permite que a reprogramação do

fenótipo materno influencie o perfil epigenético da prole, gerando efeitos em longo prazo sobre seu fenótipo (WELLS, 2010). As alterações fenotípicas ocorrem devido aos sinais que o ambiente envia ao feto e ao indivíduo em desenvolvimento, como estratégia de prepará-lo as condições futuras previstas (HANSON e GLUCKMAN, 2011).

2.2 Desenvolvimento motor

Os padrões motores seguem uma hierarquia, que vão desde as respostas reflexas, que são comportamentos mais simples e menos sujeitos ao controle voluntário; continuando com os padrões motores rítmicos, como a marcha, que combina elementos de ações reflexas e voluntárias; e por último, movimentos voluntários, que são mais complexos, geralmente dirigidos a uma função ou propósito (MILES e EVARTS, 1979).

Segundo Smart e Dobbing (1971a) o reflexo é um comportamento involuntário 'forçado' provocado por estímulos precisos. Os roedores mostram diferenças no padrão de desenvolvimento de reflexos (CABANA et al., 1993; ALLAM e ABO-ELENEEN, 2012). O aparecimento das respostas reflexas em períodos determinados está diretamente relacionado com o estado e a taxa de desenvolvimento de uma determinada área do sistema nervoso central (FOX, 1965; CABANA et al., 1993).

Os reflexos primitivos favorecem suas primeiras movimentações no meio externo, com função de estimulação sensorial e proprioceptiva (BARROS et al., 2006) atuando como mecanismos inatos de proteção ou de sobrevivência em situações de estresse ou perigo (FOX, 1965; SWERDLOW e GEYER, 1998). Algumas respostas reflexas persistem ou são modificadas dentro de um mesmo período, já que há uma sobreposição entre uma e outra. Assim a maioria dos reflexos se faz presente com o tempo, exceto o reflexo de preensão palmar que por ser primitivo desaparece (FOX, 1965).

Vários reflexos podem ser avaliados no início da vida para o acompanhamento do desenvolvimento neuro-motor: preensão palmar, endireitamento ou recuperação do decúbito, colocação pelas vibrissas, aversão ao precipício, geotaxia negativa e

endireitamento em queda livre, em camundongos (FOX, 1965), *Mongolian gerbil* (CABANA et al., 1993) e ratos (SMART e DOBBING, 1971b; ALLAM e ABO-ELENEEN, 2012). Segundo Allam (2012) geralmente, o desenvolvimento de reflexos acontece mais tarde em ratos que em camundongos.

É importante ressaltar que os eventos relacionados ao desenvolvimento da locomoção segue uma sequência pré-determinada e característica nas diferentes espécies (MUIR, 2000) e ocorre de maneira coordenada, sendo necessárias: integridade, maturação e integração entre sistema nervoso central (SNC) e músculo-esquelético (FOX, 1965; GRAMSBERGEN, 1998). Em ratos, esta sequência já foi observada e descrita na literatura (WESTERGA e GRAMSBERGEN, 1990).

No rato, a maior parte das projeções descendentes cerebrais, que iniciam e modulam o movimento, alcança a medula espinhal alguns dias antes do nascimento (CLARAC et al., 1998; JORDAN et al., 2008). O padrão adulto de postura da estrutura esquelética da coluna e da cabeça, de ratos, já está presente ao nascimento (sendo o dia do nascimento considerado dia pós-natal zero - DPN0) (LELARD et al., 2006). Mas, em DPN0, esses animais não apresentam padrão de locomoção voluntária (MUIR, 2000). A partir do controle inicial da cabeça e dos membros anteriores adquiridos na primeira semana pós-natal, ocorre um processo de maturação funcional mais rápido dos membros posteriores, sendo observado que a maturação da locomoção evolui no sentido rostro-caudal (CLARAC et al., 1998; VINAY et al., 2005). Os reflexos espinais (preensão palmar e endireitamento) em ratos aparecem em DPN3 e DPN1 e maturam entre DPN9 e DPN7, respectivamente (ALLAM e ABO-ELENEEN, 2012).

O primeiro padrão de movimento sobre o solo é o rastejar, onde a superfície ventral do corpo permanece em contato com este (GRAMSBERGEN, 1998; MUIR, 2000). Inicialmente, esse rastejar é realizado apenas com as patas anteriores, tendo a participação das quatro patas a partir de DPN4-DPN5, entretanto os membros posteriores apresentam-se em extensão (CLARAC et al., 1998; GRAMSBERGEN, 1998), este fato relacionasse com a expressão de reflexo, o qual se apresenta primeiro nas patas anteriores do que nas posteriores (ALLAM e ABO-ELENEEN, 2012). Movimentos de flexão e extensão laterais do tronco, apresentados nesse período, favorecem o pivoteamento do animal e auxiliam na ativação da musculatura de tronco

(GRAMSBERGEN, 1998). Rastejamento e pivoteamento são os tipos de locomoção predominantes até a metade da segunda semana pós-natal (WESTERGA e GRAMSBERGEN, 1990; CLARAC et al., 1998). Durante este período, o animal começa a apresentar melhor ativação da musculatura extensora dos membros posteriores, como observado por mudanças na eletromiografia (EMG) (BROCARD, VINAY e CLARAC, 1999). O reflexo de aversão ao precipício apresenta-se a partir de DPN2-DPN4 e matura em DPN7-DPN8 no camundongo (FOX, 1965) e em DPN7- DPN15 no rato (DEIRO et al., 2006).

A segunda semana após o nascimento representa um passo importante na maturação neurocomportamental do rato (LAPOINTE e NOSAL, 1979), já que durante a lactação o cerebelo alcança seu pico de desenvolvimento e a maturação de reflexo está diretamente relacionada com a diferenciação contínua e maturação dos neurônios do cerebelo (ALLAM e ABO-ELENEEN, 2012). O desenvolvimento padrão do reflexo endireitamento em queda livre está diretamente relacionado à diferenciação contínua e a maturação dos neurônios do cerebelo, este reflexo é observado a partir de DPN11 atingindo sua maturação em DPN16, no rato albino (ALLAM e ABO-ELENEEN, 2012) no camundongo em DPN14-DPN15 (FOX, 1965) e em DPN22 no *Mongolian gerbil* (CASSIDY, PFLIEGER e CABANA, 1992; CABANA et al., 1993). A partir da metade da segunda semana, o animal já consegue caminhar sustentando seu peso sobre as quatro patas (CLARAC et al., 1998). De DPN11 em diante, uma transição ocorre do rastejar para a caminhada com a superfície ventral do corpo longe do chão. (WESTERGA e GRAMSBERGEN, 1990). A partir de então, há uma rápida maturação funcional dos membros posteriores (CLARAC et al., 1998) e aumento da atividade exploratória (BÂ e SERI, 1995).

Reflexos como geotaxia negativa e colocação pelas vibrissas maturam entre DPN7-DPN8 e DPN11-DPN12 respectivamente, no camundongo (FOX, 1965) e entre DPN10-DPN13 e DPN10-DPN15, no rato (DEIRO et al., 2006). A melhora do padrão locomotor, concomitante ao aumento da ativação muscular, sugere que a musculatura tenha grande influência sobre o aparecimento do padrão adulto de locomoção (GEISLER, WESTERGA e GRAMSBERGEN, 1996). Em DPN14, aparecem os primeiros movimentos verticais (CLARAC et al., 1998). A partir de estudos de EMG,

observou-se que, em DPN15, a ativação da musculatura de tronco começa a coincidir com ciclo de marcha, precedendo os movimentos do membro inferior (GEISLER, WESTERGA e GRAMSBERGEN, 1996).

Considera-se que, a partir desta idade, o rato apresenta o padrão de marcha do adulto (WESTERGA e GRAMSBERGEN, 1990; BÂ e SERI, 1995; CLARAC et al., 1998; GRAMSBERGEN, 1998). Sendo que até DPN21, ainda ocorrerão melhora na ativação da musculatura e maturação de algumas vias descendentes, até atingirem o nível de função do animal adulto (CLARAC et al., 1998; GRAMSBERGEN, 1998; GRAMSBERGEN et al., 1999). Além disso, haverá melhora da coordenação, permitindo realização de movimentos complexos (BÂ e SERI, 1995). A partir de DPN21, há coincidência na ativação da musculatura de tronco e membros inferiores, indicando que estes apresentarão maior papel na propulsão (GRAMSBERGEN et al., 1999), tornando a locomoção mais eficiente do ponto de vista metabólico (GRAMSBERGEN et al., 1999).

A partir de DPN25 até DPN45 observa-se aumento da atividade locomotora e diminuição da atividade exploratória (BÂ e SERI, 1995). No estudo de Aragão e colaboradores (2011) a atividade locomotora foi avaliada através de três parâmetros (distância percorrida, potencia média e velocidade média) procurando expressar a capacidade de movimento mecânico do animal. Os dados mostraram diminuição da distância percorrida, assim como aumento da potencia média no DPN30 e DPN60. Enquanto que a velocidade média apresentou aumento progressivo com relação à idade, concluindo que a capacidade do animal para gerar movimento está relacionada ao nível de maturação, ativação e coordenação de estruturas neurais (sensorial e motor) e principalmente à ativação muscular (ARAGAO RDA et al., 2011).

2.3 Lipídeos na dieta materna e desenvolvimento da prole

Na gravidez, a dieta materna é um fator importante que influencia no metabolismo e desenvolvimento fetal. Consequentemente, fatores nutricionais, como o consumo de energia, ácidos graxos, proteínas e micronutrientes, podem atuar sobre dito desenvolvimento (MATHIAS et al., 2014). O desenvolvimento fetal é em grande parte determinado pela disponibilidade de nutrientes na circulação materna e pela

capacidade destes nutrientes para serem transportados para a circulação fetal através da placenta (BRETT et al., 2014). Macronutrientes como a glicose, aminoácidos, ácidos graxos livres (AGL) e o colesterol atravessam a placenta através de transportadores específicos (BRETT et al., 2014). Na circulação materna, os lipídios são principalmente encontrados como triglicerídeos, fosfolipídios e ésteres de colesterol. Contudo, os triglicerídeos não podem atravessar a barreira placentária, sendo transformados em ácidos graxos livres através de lipases placentárias (HERRERA, 2002).

Os ácidos graxos exercem um papel crítico no crescimento fetal, como o desenvolvimento do cérebro e a adipogênese, (BRETT et al., 2014) esta cumprirá funções energéticas e de reserva metabólica. Diferentes tipos de ácidos graxos, como os poliinsaturados de cadeia longa, são transportados através da placenta para o feto e são eficientemente transferidos através do leite materno em humanos e ratos (ELIAS e INNIS, 2001; WOLFF, 2003). O conteúdo total de gordura e a composição do leite materno em humanos são influenciados pelo período de lactação, estado nutricional e tipo de dieta ingerida pela mãe, sendo crucial a dieta materna (WOLFF, PRECHT e MOLKENTIN, 1998). Mudanças na disponibilidade de componentes lipídicos por alterações dietéticas têm implicações no desenvolvimento pós-natal (HERRERA, 2002).

A exposição a uma dieta rica em gordura pode causar obesidade materna no momento da concepção, modulando o ambiente intrauterino (SHANKAR et al., 2008), de tal forma que a prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica apresenta maior porcentagem de gordura corporal (WHITE, PURPERA e MORRISON, 2009), produzindo desordens metabólicas com uma prejudicada sinalização da insulina e capacidade mitocondrial, na prole (BAYOL, SIMBI e STICKLAND, 2005).

Essas desordens metabólicas também foram encontradas no estudo de Guo e Jen (1995) em que filhotes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica, cuja fonte de lipídeo foi óleo vegetal parcialmente hidrogenado, apresentaram maior peso e gordura corporal, níveis elevados de glicemia e de triglicerídeos, demonstrando resistência à insulina. Em outro estudo, Liang e colaboradores (2009) observaram na prole de camundongos de mães alimentadas com dieta rica em lipídeos saturados durante a gestação, hiperglicemia, resistência à insulina, obesidade e hipertensão na vida adulta, constatando que a ingestão de uma dieta alta em gordura durante a gestação e/ou

lactação pode afetar os processos metabólicos normais, predispondo a prole à obesidade e diabetes no futuro (GUO e JEN, 1995; LIANG, OEST e PRATER, 2009).

Os ácidos graxos saturados (AGS) estão representados principalmente pelos ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido mirístico (C14:0) e ácido láurico (C12:0), os quais desempenham funções biológicas como a lipogênese, deposito de gordura, biodisponibilidade de ácidos graxos poliinsaturados e apoptose (LEGRAND e RIOUX, 2010). No entanto, o consumo elevado de AGS está associado a hiperglicemia, hiperinsulinemia e resistência à insulina, característicos da diabetes tipo II e gestacional (LIANG, OEST e PRATER, 2009), aumentando o estrese oxidativo, o qual modifica as vias de sinalização relacionadas com o desenvolvimento fetal (GARCIA-PATTERSON et al., 2004).

Outros tipos de ácidos graxos amplamente estudados são os ácidos graxos *trans* (AGT), que são ácidos graxos derivados de insaturados modificados por reação química, tornando-se semelhantes aos ácidos saturados. Em sua maioria, provêm de óleos vegetais parcialmente hidrogenados e uma pequena quantidade através da gordura de animais ruminantes (AUED-PIMENTEL et al., 2009). Estudos têm evidenciado que AGT são transmitidos para o feto durante a gestação através da placenta (INNIS, 2006) e durante o período de lactação através do leite materno (INNIS e KING, 1999; INNIS, 2006). O consumo de ácidos graxos *trans*, tem efeitos adversos sobre o crescimento e desenvolvimento, já que inibem a desnaturação do ácido linolênico (n-3) e ácido linoleico (n-6) para ácido docosahexaenóico (DHA) e ácido araquidônico (AA), respectivamente (INNIS e KING, 1999; ELIAS e INNIS, 2001). Estudos revelam que o consumo de AGT durante a gestação e/ou lactação alteram o desenvolvimento somático, perfil lipídico e sensibilidade à insulina da prole (IBRAHIM et al., 2009). Além disto, a prole de ratos machos de mães alimentadas com dieta elevada em gordura saturada ou *trans* apresentaram aumento de citocinas inflamatórias que afetam o desenvolvimento neural (BILBO e TSANG, 2010).

Por outro lado, a demanda fetal de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPICL), especificamente DHA e AA, aumenta durante a gestação e lactação (KOLETZKO et al., 2001). Desta forma, esses ácidos graxos são considerados componentes essenciais para o desenvolvimento neuronal e visual (GIBSON,

NEUMANN e MAKRIDES, 1996; ELIAS e INNIS, 2001; KOLETZKO et al., 2001), uma vez que quantidades importantes de DHA e AA são necessárias para a diferenciação celular e sinaptogênese do tecido neural (CLANDININ, 1999). Em ratos, foi demonstrado que, ao receber quantidades limitadas de DHA e/ou AA durante o período pós-natal, a composição de ácidos graxos das membranas celulares do cérebro formadas durante esse período de desenvolvimento apresentaram-se alteradas (JUMPSEN et al., 1997).

Bautista et al. (2016) observaram, em ratas obesas, menor produção de leite, menor conteúdo de água, menor teor de carboidratos, EPA e DHA, acompanhado de aumento da leptina e AA em relação ao grupo controle. Os autores concluíram que a obesidade materna induzida por dieta hiperlipídica hipercalórica afeta negativamente a função da glândula mamaria causando mudanças significativas na composição do leite, assim como no metabolismo e desenvolvimento da prole já que aos 21 e 36 dias pós-natais apresentaram maior depósito de gordura e menor peso do cérebro.

Em outro estudo, Del Prado (1997) avaliou a composição do leite materno de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica isocalórica (20g de gordura/100g de dieta) e de ratas alimentadas com dieta baixa em gordura (2.5g de gordura/100g de dieta), durante os períodos de gestação e lactação. O estudo observou que a produção diária de gordura, proteína e lactose no leite materno de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica isocalórica foi maior que às ratas alimentadas com dieta baixa em gordura.

2.4 Manipulações nutricionais e repercussões na locomoção

Um adequado fornecimento de nutrientes é imprescindível para a manutenção do crescimento em todos os sistemas orgânicos, assim como para o normal desenvolvimento de suas funções fisiológicas (MORGANE et al., 1993). Pesquisas mostram que a desnutrição proteica durante o período pré-natal e/ou pós-natal (pré-desmame), produz déficit no desenvolvimento físico e motor (SYKES e CHEYNE, 1976), uma vez que a restrição proteica diminui a disponibilidade de aminoácidos necessários para a síntese de proteínas estruturais, formação de enzimas, hormônios e neurotransmissores (TONKISS et al., 1993). O modelo experimental de desnutrição em

ratos, induzido pela Dieta Básica Regional (DBR) durante a gestação (ANSELMO et al., 2006) ou lactação (BARROS et al., 2006), demostrou um atraso na maturação reflexa (ANSELMO et al., 2006; BARROS et al., 2006) e diminuição da atividade locomotora na prole (BARROS et al., 2006).

A "transição nutricional" de um estado de subnutrição para o de nutrição excessiva pode ter consequências nocivas para a saúde das futuras gerações ao afetar o desenvolvimento no inicio da vida (ELAHI et al., 2009). Tem sido utilizado o regime alimentar em que são oferecidos aos animais experimentais vários alimentos palatáveis consumidos pelo humano (ROTHWELL e STOCK, 1988). Esse regime denomina-se de dieta ocidentalizada, *"junk food",* ou dieta de cafeteria (SHAFAT, MURRAY e RUMSEY, 2009).

A dieta de cafeteria caracteriza-se por ser altamente processada, palatável e hipercalórica, tendo um elevado teor de carboidratos, na sua maioria carboidratos simples, provenientes do uso de cereais e açúcares refinados; grandes quantidades de gordura, principalmente gorduras saturadas e/ou *trans*; sódio e baixo teor de proteínas, fibras alimentares e nutrientes essenciais (BAYOL, SIMBI e STICKLAND, 2005; BAYOL, FARRINGTON e STICKLAND, 2007; BAYOL et al., 2009).

A utilização da dieta de cafeteria considera-se ainda o melhor modelo animal para o estudo da hiperfagia (desregulação do apetite) e obesidade (desregulação no tecido adiposo) nas sociedades humanas (ROTHWELL e STOCK, 1988; SHAFAT, MURRAY e RUMSEY, 2009), assim como para estudar os mecanismos de regulação do balanço energético e da termogênese induzida pela dieta (ROTHWELL e STOCK, 1988).

Tem sido demonstrado que o consumo da dieta de cafeteria durante a gestação e lactação reduz a força muscular da prole, tanto na contração específica como na tensão tetânica (BAYOL et al., 2009), causando atrofia muscular com menor número de fibras musculares (BAYOL, SIMBI e STICKLAND, 2005) e comprometendo as funções básicas do músculo esquelético como a produção de movimento e força. Mas, esses efeitos poderiam se apresentar pelo baixo aporte proteico ~ 9 % da dieta de cafeteria, quando comparada ao aporte proteico ~22 % da dieta de laboratório (BAYOL, SIMBI e STICKLAND, 2005), sendo uma desvantagem sua utilização quando se pretende

avaliar os efeitos dos outros componentes da dieta como o lipídeo; o carboidrato ou a caloria.

Por outro lado, Brenneman (1982) analisou os efeitos da dieta rica em ácidos graxos saturados ou insaturados na atividade locomotora em ratos em desenvolvimento, e observou que a prole de mães alimentadas com dieta rica em gordura poliinsaturada apresentou aumento da atividade locomotora quando comparado aos filhotes de mães alimentadas com dieta rica em gordura saturada (óleo de coco) ou dieta padrão de laboratório. Outro estudo mostrou que a prole de mães expostas à dieta alta em (n-6) AGPI durante a gestação apresentou maior atividade locomotora que o grupo controle (RAYGADA, CHO e HILAKIVI-CLARKE, 1998).

Após a revisão da literatura, não fica claro se os efeitos no período do desenvolvimento (gestação e lactação) da dieta materna hiperlipídica são influenciados pelo teor de lipídeos saturados ou pela caloria da dieta materna o qual será avaliado através das repercussões sobre a ontogenia de reflexos e da atividade locomotora na prole.

3 HIPÓTESE

As dietas hiperlipídicas materna independente de seu aporte calórico causam atraso na maturação de reflexos e, consequentemente, no desenvolvimento da locomoção da prole.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliar, na prole, as repercussões da dieta hiperlipídica materna isocalórica ou hipercalórica sobre a ontogenia de reflexos e da atividade locomotora.

4.2 Específicos

Mães

Avaliar:

- Consumo alimentar;
- Evolução do peso corporal.

Filhotes

Avaliar na prole:

- Crescimento somático;
- Maturação de características físicas;
- Ontogenia de reflexos;
- Desenvolvimento da atividade locomotora;

5 MÉTODOS

5.1 Questões éticas

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), processo 23076.024643/2015-55. Os experimentos foram iniciados assim da aprovação da referida comissão (ANEXO A). A manipulação e os cuidados com os animais seguiram as recomendações do Conselho Nacional de Controle Experimentação Animal (CONCEA).

5.2 Animais

Foram utilizadas 29 ratas albinas da linhagem *Wistar*, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Para escolha da amostra foram utilizados alguns critérios de acordo com Bento-Santos (2012): 1) não possuir parentesco, 2) idade entre 90 e 120 dias de vida, 3) peso entre 220 e 250 gramas e 4) ser nulíparas. Estes cuidados foram adotados para minimizar possíveis influências genéticas e fisiológicas nos resultados.

Os animais foram mantidos em biotério de experimentação, com temperatura de 23°C±2°C, num ciclo 12/12h [ciclo claro (20:00 às 08:00 h) e ciclo escuro (08:00 às 20:00 h)] e livre acesso à água filtrada e alimentação. Após o período de adaptação, os roedores foram colocados em gaiolas padrão de biotério feita de polipropileno (33x40x17cm) para mapeamento do ciclo estral através de esfregaço vaginal, e no período estro as fêmeas foram postas para acasalar (2 fêmeas /1 macho). Após visualização da presença de espermatozoide na cavidade vaginal (MARCONDES, BIANCHI e TANNO, 2002), as ratas foram separadas dos machos e alojadas individualmente em gaiolas-maternidades, onde tiveram livre acesso a água filtrada e a dieta experimental.

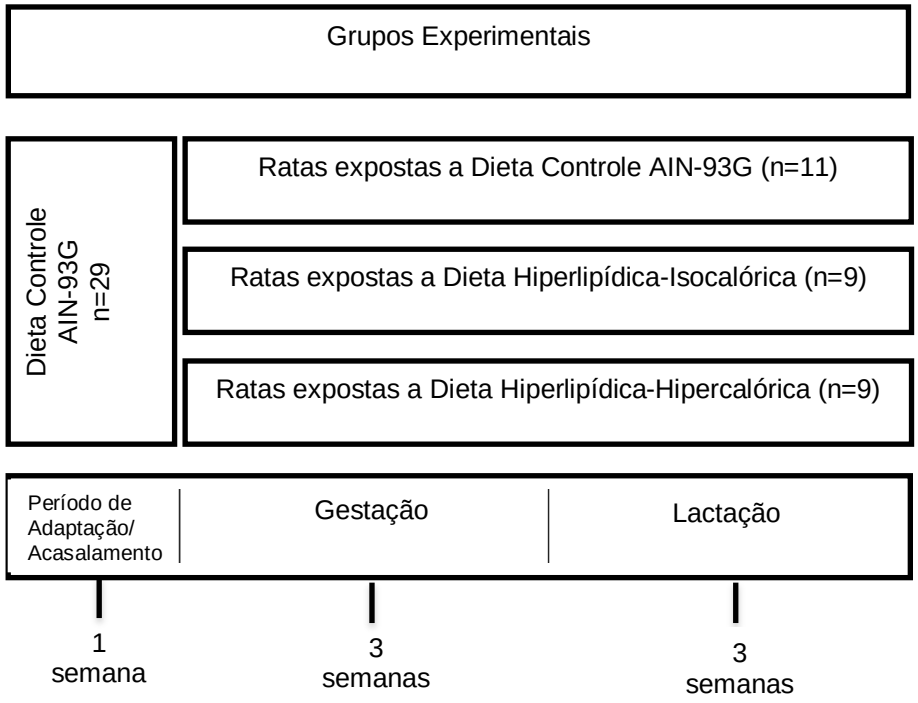
Um dia após o nascimento, os neonatos foram separados das respectivas mães para serem pesados e selecionados. A ninhada foi ajustada para oito filhotes (com o máximo de filhotes machos possíveis, sendo utilizadas as fêmeas apenas para

completar a ninhada). No 1º dia pós-natal foram escolhidos os machos com peso entre 4,5 e 7,5 g. Os animais supranumerários foram sacrificados por decapitação. Os animais foram amamentados durante os primeiros 21 dias pós-natal (período de aleitamento). Neste período, os animais também foram submetidos às dietas experimentais. No 21° dia pós-natal, foi realizado o desmame de todos os animais que foram utilizados para avaliar a ontogenia de reflexos, características físicas, crescimento somático e atividade locomotora. Após o desmame, apenas os animais usados para a avaliação da atividade locomotora continuaram sendo filmados e alimentados com dieta padrão de biotério (Presence) até os 60 dias de idade.

5.3 Desenho experimental

Os animais foram divididos em três grupos, de acordo com a dieta recebida pela mãe durante todo o período de gestação e lactação: Grupo Controle (C, n=11), Grupo Hiperlipídico/Isocalórico (HI, n=9) e Grupo Hiperlipídico/Hipercalórico (HH, n=9). As dietas foram sempre ofertadas *ad libitum*.

Figura 1 – Esquema de formação dos grupos experimentais.



5.4 Dietas

Para manipulação dietética, foram utilizadas a dieta controle proposta por Reeves, Nielsen e Fahey (1993) e duas dietas experimentais com base na controle. Estas últimas diferiam na quantidade de lipídeo e de calorias. Essas dietas foram confeccionadas no Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética (LNED), da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Todas as dietas tiveram como fonte de proteína a caseína, com suplementação de metionina. Foi seguida a recomendação de, no mínimo, 17% de proteína e de ácidos graxos poliinsaturados (óleo de soja) (REEVES, NIELSEN e FAHEY, 1993). O acréscimo de lipídios foi realizado com banha animal marca Aurora. A composição centesimal e de macronutrientes das dietas experimentais que foram ofertadas durante os períodos da gestação e lactação, apresentam-se na tabela 1 e 2 respectivamente.

Tabela 1 – Composição centesimal das dietas experimentais.

Ingredientes (g)	**Controle AIN-93G (g/100g)***	**Hiperlipídica Isocalórica (g/100g)**	**Hiperlipídica Hipercalórica (g/100g)**
Caseína (>85% proteína)	20,00	20,00	25,20
Amido de milho (87% carboidrato)	39,75	19,30	24,50
Amido dextrinizado (92% carboidrato)	13,20	6,40	8,00
Sacarose	10,00	4,85	6,17
Óleo de soja (7,61 ml)	7,00	7,00	7,00
Banha animal (100% lipídeo)	-	13,40	19,00
Celulose	5,00	24,00	5,00
Mix mineral (AIN-93G)	3,50	3,50	3,50
Mix vitamínico	1,00	1,00	1,00
L-Metionina	0,30	0,30	0,38
Bitartarato de colina	0,25	0,25	0,25
TBHQ	0,0014	0,0014	0,0014
Calorias (g/100g)	3,60	3,64	4,62

Fonte: *Adaptado de Reeves, Nielsen e Fahey (1993). Os cálculos da composição centesimal foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos.

Tabela 2 – Composição de macronutrientes das dietas segundo o Valor Energético Total (VET).

VET por Macronutrientes	Controle AIN-93G	Hiperlipídica Isocalórica	Hiperlipídica Hipercalórica
VET (kcal/g)	3,60	3,64	4,62
Proteína (% kcal VET)	19	19	19
Carboidrato (% kcal VET)	63	30	30
Lipídeo (% kcal VET)	18	51	51

Inicialmente, foi realizado um experimento piloto para testar a aceitação dos animais às novas dietas. A composição bioquímica de macronutrientes das dietas foram analisados no Laboratório de Análise de Planta, Ração e Água (LAPRA) do Instituto Agronômico de Pernambuco - IPA (ANEXO B).

Após o desmame os filhotes utilizados para a avalição da atividade locomotora de cada grupo experimental receberam dieta padrão de laboratório Presence® até os 60 dias de idade. Na tabela 3 apresenta-se a composição de macronutrientes da dieta pós desmame.

Tabela 3 – Composição de macronutrientes da dieta pós desmame.

Macronutrientes	Dieta padrão de laboratório		
	g	Kcal	Kcal%
Proteína	23	92	26
Carboidrato	58	36	64
Lipídeo	4	232	10
Total		360	100
Kcal/g		3,6	

5.5 Avaliação das mães

5.5.1 *Avaliação murinométrica*

Peso Corporal - Foi medido o peso das mães no 1°, 7°, 14° e 20° dia durante o período de gestação e no 1°, 7°, 14° e 21° dia durante a lactação. Foram escolhidos tais dias para evitar excesso de manipulação ou estresse na mãe. O peso foi aferido utilizando balança eletrônica (Shimadzu, modelo BL3200H com sensibilidade de 0,01 g). Os dados obtidos serviram para calcular a porcentagem de ganho de peso corporal (GPC) através da seguinte fórmula:

%GPC = [peso corporal final (g) X 100/peso do 1º dia de gestação (g)] – 100

(BAYOL et al., 2004)

5.5.2 *Consumo dietético*

Durante a gestação e lactação o consumo dietético, foi realizado diariamente. O consumo foi determinado pela diferença entre a quantidade de dieta ofertada durante o inicio do ciclo escuro (08:00 h) e a quantidade de dieta rejeitada 24 h depois (LOPES DE SOUZA et al., 2008). O consumo energético semanal foi calculado pela multiplicação da quantidade de dieta ingerida durante a gestação e lactação pelo valor energético de cada dieta experimental. Também foram calculados a conversão alimentar (CA) e a eficiência energética (EE) através das seguintes formulas:

CA = peso corporal final – peso corporal inicial/consumo total EE = peso corporal final – peso corporal inicial/valor calórico da dieta consumida

(FERRO CAVALCANTE et al., 2013)

5.6 Avaliação da prole

5.6.1 *Crescimento somático*

O crescimento somático foi avaliado nos filhotes a cada um dia, do 1° ao 21° dia pós-natal, segundo o protocolo de (SILVA et al., 2005). Após o desmame, o peso corporal dos filhotes também foi avaliado aos 30, 45 e 60 dias de vida. Todas as avaliações foram feitas sempre pelo mesmo avaliador no horário de 08:00 às 10:00 horas, quanto as seguintes medidas:

Peso Corporal - Foi aferido em balança eletrônica (Shimadzu, modelo BL3200H com sensibilidade de 0,01 g). O animal era colocado em recipiente de plástico com tampa, previamente tarado para evitar flutuações do peso.

Comprimento da Cauda - O animal era colocado em cima de uma prancheta forrada com papel milimetrado assentada sobre uma mesa. Em seguida, era medida a distância entre a ponta e a base da cauda com paquímetro digital (Zaas, com 0,01 mm de precisão).

Eixo Látero-lateral do Crânio - A cabeça do animal era contida com a mão ficando entre os dedos indicador e polegar. Com o paquímetro foi medida a distância entre os pavilhões auriculares.

Eixo Ântero-posterior do Crânio - A medida foi realizada com paquímetro medindo a distância entre o focinho e a articulação da cabeça com o pescoço.

Eixo Longitudinal - O animal era colocado em cima de uma prancheta forrada com papel milimetrado assentada sobre uma mesa. Em seguida, procedia-se a conter a região dorsal do animal com a mão e com ajuda do paquímetro se media a distância entre o focinho e a base da cauda.

Porcentagem de ganho de peso e taxa específica de ganho de peso - Foram, respectivamente, determinadas a partir da relação entre (peso corporal final (g) x 100/peso corporal inicial (g)) – 100) (BAYOL et al., 2004) e a relação entre: dM/Mdt (NOVELLI et al., 2007), em que dM representa o ganho de peso corporal durante dt (t2-t1) e M é o peso corporal do rato em t1 (data inicial do período). A porcentagem de

ganho de peso foi analisada do 1º ao 21º e do 21º até o 60º dia pós-natal por intervalo de idade, e a taxa específica de ganho de peso do 1º ao 21º dia pós-natal.

5.6.2 *Características físicas*

A observação das características físicas nos filhotes foi realizada diariamente de acordo com Smart e Bobbing (1971a) a partir do segundo dia após o nascimento até quando a maturação somática acontecia. No horário de 08:00 às 10:00 horas, as seguintes características físicas foram observadas:

Abertura do Pavilhão Auditivo - Considerou-se a maturação desta característica quando foi observado o desdobramento do pavilhão externo de ambas as orelhas para a posição totalmente ereto.

Abertura do Conduto Auditivo - O conduto auditivo foi considerado aberto quando o animal apresentava uma simultânea e rápida retração do corpo após ser submetido a um som agudo.

Erupção dos Incisivos Inferiores - Foi considerada como positiva quando o rato apresentava rompimento da gengiva com erupção visível e palpável do par de incisivos inferiores.

Erupção dos Incisivos Superiores - Foi considerada como positiva quando o rato apresentava rompimento da gengiva com erupção visível e palpável do par de incisivos superiores.

Abertura dos Olhos - Esta característica foi considerada maturada quando foi detectada a ruptura total da membrana que cobre os olhos, deixando-os visíveis.

5.6.3 *Ontogenia de reflexos*

Em cada animal dos diferentes grupos foi analisado diariamente, do 1° ao 21° dia pós-natal, no horário de 08:00 às 10:00 horas, a maturação dos seguintes reflexos: preensão palmar, endireitamento, colocação pelas vibrissas, aversão ao precipício, geotaxia negativa, reação de endireitamento em queda livre, resposta ao susto. Para cada um dos reflexos acima mencionados, foi registrado o dia de sua consolidação, ou seja, aparecimento da resposta total. O dia da consolidação do reflexo foi considerado o

primeiro dia na primeira sequência de três dias consecutivos de aparecimento completo da resposta reflexa esperada. As avaliações foram realizadas sempre pelo mesmo avaliador utilizando-se instrumentos elaborados ou existentes no laboratório, conforme estabelecido por (SMART e DOBBING, 1971a) e como descrito abaixo:

Preensão Palmar - A preensão palmar foi avaliada através da percussão de um bastonete, com aproximadamente 5 cm de comprimento por 1 mm de diâmetro na palma da pata dianteira esquerda de cada animal. A resposta foi considerada negativa, se houvesse a flexão rápida dos dedos após duas tentativas. Este reflexo é primitivo e inato, sendo sua presença indicativa de imaturidade do sistema nervoso, ou seja, com a maturação ocorre inibição deste reflexo. Registrou-se, portanto, o dia do seu desaparecimento como positivo.

Endireitamento - O rato foi colocado em decúbito dorsal sobre uma superfície plana. Durante 10 s, foi observada a eventual resposta parcial ou total de endireitamento corporal, com retorno ao decúbito ventral. As respostas foram consideradas como: negativa - quando o animal não consegue sair da postura em que foi colocado, e positiva - quando o animal consegue girar o corpo e assumir o decúbito ventral, apoiado sobre as quatro patas, dentro de um período máximo de 10 segundos.

Colocação pelas Vibrissas - O rato foi suspenso pela cauda de tal forma que suas vibrissas toquem levemente a borda de uma mesa, sendo assim mantido. As respostas foram consideradas como: negativa - a ausência de orientação de movimentos em direção ao apoio, e positiva - a orientação dos movimentos para a superfície, e a execução de movimentos de marcha com a extensão de tronco no período de até 10 s.

Aversão ao Precipício - O animal foi colocado com as patas dianteiras na extremidade de uma superfície plana e alta (mesa) de maneira a detectar o precipício. A resposta foi considerada como: positiva - quando o animal, no tempo máximo de 10 s, se deslocar para um dos lados (num ângulo de pelo menos 45 graus) e caminhar em sentido contrário à borda, caracterizando a aversão ao precipício. A resposta negativa foi caracterizada por ausência de qualquer reação e/ou queda do animal.

Geotaxia Negativa - O animal foi colocado no centro de uma rampa com a cabeça no sentido descendente. A rampa, com 45 graus de inclinação, foi constituída

de uma superfície (prancheta medindo 34 x 24 cm) revestida com material antiderrapante (papel crepom). Considera-se como resposta: Positiva, o animal, num período máximo de 10 s, gira aproximadamente 140 graus, posicionando a cabeça em sentido ascendente; Negativa, queda ou giro do animal em ângulo menor que 90 graus.

Endireitamento em Queda Livre - O rato foi segurado pelas quatro patas com o dorso voltado para baixo, a uma altura de 30 cm (uma régua de 30 cm, perpendicular ao plano, serviu como guia). O animal foi então solto e observou-se sua queda livre sobre um leito de espuma sintética (30 x 12 cm). A resposta foi considerada Positiva, quando o animal realiza uma rotação do corpo no ar, voltando o ventre para baixo e caindo na superfície do leito apoiado sobre as quatro patas.

Resposta ao Susto - O rato foi submetido a um som agudo, realizado pela percussão de um bastão metálico sobre um recipiente também metálico e oco, a uma distância de 10 cm do animal. A resposta foi considerada como: positiva - quando ocorria uma simultânea e rápida retração com imobilização involuntária do corpo do animal, característica do susto, e negativa - quando não se retraia após o som agudo.

5.6.4 *Maturação motora*

Marcha - O animal foi colocado no centro de um círculo de papel de 13 cm de diâmetro. A resposta foi considerada como: positiva - quando o animal, no tempo máximo de 30 s, consegue-se deslocar para fora do círculo com suas duas patas dianteiras, e negativa - quando o animal permanece por mais de 30 s dentro do círculo (CARDENAS et al., 2015). O teste foi avaliado diariamente do 1° ao 21° dia pós-natal.

5.6.5 *Atividade locomotora*

Foi avaliada aos 8, 14, 17, 21, 30, 45 e 60 dias pós-natal, através de um sistema de monitoramento de pequenos animais durante a fase escura do ciclo circadiano (10:00h as 12:00h). Essas idades foram escolhidas por apresentarem marcos do desenvolvimento da locomoção nos animais (WESTERGA e GRAMSBERGEN, 1990). O sistema consiste em um campo aberto circular (Ø1m), delimitado por paredes de 30

cm de altura. A trajetória do animal foi registrada, por uma câmera digital, durante cinco minutos, enquanto o animal se locomove livremente no campo. Na troca dos animais, o campo foi limpo com solução de água e hipoclorito, e o etil vinil acetato (EVA) trocado, para eliminar odores que possam interferir no comportamento do animal seguinte. Os vídeos foram analisados *off-line*, através de um sistema automático de análise (ARAGAO RDS et al., 2011) desenvolvido pelo próprio grupo de pesquisa de onde foram extraídos os seguintes dados:

Distância percorrida (m) - Soma de todo o percurso realizado pelo animal que foi capaz de deslocar o seu centro de massa ao longo do comprimento do seu raio.

Deslocamento rotacional (m) - Soma de todos os pequenos deslocamentos realizados pelo animal que não foi maior que o comprimento do seu raio. Esta análise foi incluída para serem considerados pequenos movimentos da cabeça e das patas.

Velocidade média (m/s) - Taxa do deslocamento total pelo tempo que o animal permaneceu em movimento.

Potência média (mW) - Potência produzida durante o período de deslocamento.

Gasto energético total (kcal) - É o gasto energético total durante o período de deslocamento.

Tempo de imobilidade (s) - Tempo total que o animal permaneceu parado no campo aberto.

Número de paradas - Número total de paradas realizadas no campo.

Tempo de imobilidade/número de paradas (s) - Relação entre o tempo de imobilidade e o número total de paradas.

Tempo de permanência nas áreas do campo - O campo aberto foi dividido virtualmente em três áreas (central, intermediária e periférica). Sendo dado o tempo total dos animais nestas áreas.

Com esse conjunto de informações podemos inferir sobre o comportamento locomotor desses animais.

5.7 Análise estatística

Os dados foram analisados estatisticamente através do software GraphPad Prism 6® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Inicialmente foi realizado o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov para todas as análises.

As análises maternas como: consumo alimentar e peso corporal foram analisados por ANOVA two-way medidas repetidas (dieta x tempo) com pós-teste de Tukey. Conversão alimentar, eficiência energética, porcentagem de ganho de peso, peso da ninhada, número de filhotes nascidos foram analisados por ANOVA one-way (dieta) com pós-teste de Tukey.

Para os filhotes, peso corporal, crescimento somático e todos os parâmetros avaliados na atividade locomotora foram analisados por ANOVA two-way medidas repetidas (dieta x tempo) com pós-teste de Tukey. A ontogenia de reflexos e a maturação motora foram analisadas por ANOVA one-way (dieta) com pós-teste de Tukey. As características físicas foram analisadas por Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn's.

Variáveis paramétricas são apresentadas como média e erro padrão da média. Variáveis com distribuição não-paramétrica são descritas pela mediana e percentil 25 e 75. O nível de significância adotado foi $p< 0,05$ para todas as análises.

6 RESULTADOS

Durante o período de gestação, não foi observada diferença entre os grupos experimentais com relação ao peso inicial e final, a porcentagem de ganho de peso total das ratas (Tabela 4). Além disso, não houve diferença no peso da ninhada ao nascimento e no número total de filhotes (Tabela 4). Contudo, foi observado que a taxa de conversão alimentar das mães pertencentes ao grupo HH foi maior que o grupo de mães controle ($p<0,001$) e que o grupo de mães HI ($p<0,01$) (Tabela 3). Também houve diferença na eficiência energética a qual foi maior nas mães alimentadas com dieta hiperlipídica/hipercalórica e hiperlipídica/isocalórica quando comparadas às mães alimentadas com dieta controle ($p<0,05$) (Tabela 4).

No período de lactação, não houve diferenças no peso inicial e final, na porcentagem de ganho de peso total, assim como na taxa de eficiência energética das mães (Tabela 4). Contudo, a taxa de conversão alimentar foi menor no grupo de mães que receberam dieta hiperlipídica/hipercalórica quando comparadas às mães que receberam dieta controle ($p<0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 – Efeitos das dietas hiperlipídicas materna sobre parâmetros ponderais e nutricionais durante diferentes períodos perinatais.

Variáveis	C (n = 11)	HI (n = 9)	HH (n = 9)
Gestação			
Peso corporal inicial (g)	242,60 ± 4,90	244,30 ± 6,38	239,60 ± 3,30
Peso corporal final (g)	333,00 ± 8,84	334,00 ± 8,00	338,60 ± 7,29
% de ganho de peso total	35,26 ± 2,12	36,77 ± 1,73	39,68 ± 3,01
Peso da ninhada (g)	59,84 ± 3,82	64,35 ± 3,80	64,11 ± 3,31
Número de filhotes (n)	10,64 ± 0,58	11,25 ± 0,53	11,22 ± 0,46
Conversão alimentar (CA)	0,21 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,32 ± 0,01[ab]
Eficiência energética (EE)	6,08 ± 0,25	7,15 ± 0,33[a]	7,16 ± 0,30[a]
Lactação			
Peso corporal inicial (g)	271,50 ± 6,65	266,50 ± 5,83	271,50 ± 5,79
Peso corporal final (g)	276,50 ± 6,47	274,40 ± 7,44	269,40 ± 6,59
% de ganho de peso total	0,93 ± 1,02	0,08 ± 1,22	-0,71 ± 1,58
Conversão alimentar (CA)	0,004 ± 0,003	-0,0004 ± 0,004	-0,01 ± 0,01[a]
Eficiência energética (EE)	0,05 ± 0,07	0,07 ± 0,08	-0,11 ± 0,11

Resultados são apresentados como médias ± EPM. Grupos: C = grupo controle; HI = grupo hiperlipídico isocalórico; HH = grupo hiperlipídico hipercalórico. Teste *one* e *two way* ANOVA, seguido do pós-teste Tukey; [a]*P*<0,05 vs. C; [b]*P*<0,05 vs. HI.

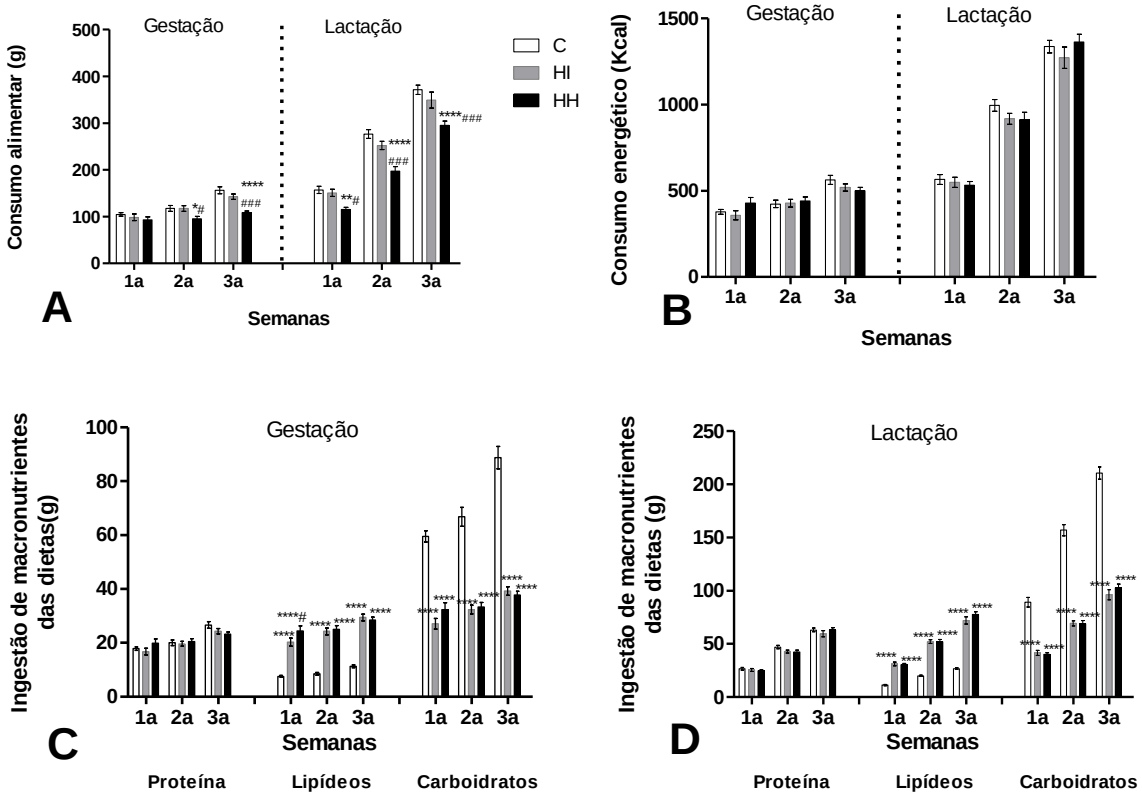
Quanto ao consumo alimentar das mães no período de gestação, foi observado que, na segunda e terceira semana de gestação, as mães alimentadas com dieta hiperlipídica/hipercalórica apresentaram menor consumo alimentar em gramas quando comparadas às mães que receberam dieta controle e dieta hiperlipídica/isocalórica (2ª sem: C = 117,70 ± 6,14; HI = 117,61 ± 6,07; HH = 95,42 ± 5,01; em gramas, p<0,05 *vs.* C e HI; 3ª sem: C = 156,50 ± 7,38; HI = 142,74 ± 5,81; HH = 108,41 ± 3,96; em gramas, p<0,0001 *vs.* C; p<0,001 *vs.* HI) (Figura 2A).

Na lactação, foi observado que durante as três semanas deste período houve menor consumo em gramas das mães pertencentes ao grupo hiperlipídico/hipercalórico quando comparadas ao grupo de mães controle e hiperlipídico/isocalórico (1º sem: C = 157,18 ± 7,91; HI = 151,02 ± 8,07; HH = 115,01 ± 4,95; em gramas, p<0,01 *vs.* C; p<0,05 *vs.* HI; 2ª sem: C = 276,65 ± 9,37; HI = 252,20 ± 8,65; HH = 197,62 ± 9,13; em gramas, p<0,0001 *vs.* C; p<0,001 *vs.* HI; 3ª sem: C = 371,31 ± 9,98; HI = 349,58 ± 17,00; HH = 295,06 ± 9,86; em gramas, p<0,0001 *vs.* C; p<0,001 *vs.* HI) (Figura 2A). Contudo, não houve diferenças no consumo energético (kcal) entre os grupos experimentais durante os períodos de gestação e lactação (Figura 2B).

Em relação aos macronutrientes, não houve diferença entre os grupos no consumo de proteína (Figura 2C). O consumo de lipídeos foi maior durante as três semanas de gestação e de lactação em ambos os grupos hiperlipídicos quando comparados com o grupo controle (Gestação: 1º sem: C = 7,58 ± 0,27; HI = 20,30 ± 1,47; HH = 24,43 ± 1,85; em gramas, p<0,0001; 2º sem: C = 8,50 ± 0,44; HI = 24,25 ± 1,25; HH = 25,08 ± 1,32; em gramas, p<0,0001; 3º sem: C = 11,30 ± 0,53; HI = 29,43 ± 1,19; HH = 28,49 ± 1,04; em gramas, p<0,0001; Lactação: 1º sem: C = 11,35 ± 0,57; HI = 31,14 ± 1,66; HH = 30,23 ± 1,30; em gramas, p<0,0001; 2º sem: C = 19,97 ± 0,68; HI = 52,00 ± 1,79; HH = 51,94 ± 2,40; em gramas, p<0,0001; 3º sem: C = 26,81 ± 0,72; HI = 72,08 ± 3,51; HH = 77,54 ± 2,59; em gramas, p<0,0001) (Figura 2C e 2D) e durante a 1ª semana de gestação quando comparado o grupo de mães hiperlipídico/hipercalórico com o grupo hiperlipídico/isocalórico (p<0,05) (Figura 2C). Quanto ao consumo de carboidratos, este foi menor nos grupos hiperlipídicos quando comparados com o grupo controle durante todo o período de gestação e lactação (Gestação: 1º sem: C = 59,56 ± 2,09; HI = 27,10 ± 1,96; HH = 32,39 ± 2,45; em gramas, p<0,0001; 2º sem: C = 66,77 ±

3,48; HI = 32,38 ± 1,67; HH = 33,25 ± 1,75; em gramas, p<0,0001; 3º sem: C = 88,78 ± 4,19; HI = 39,30 ± 1,60; HH = 37,78 ± 1,38; em gramas, p<0,0001; Lactação: 1º sem: C = 89,17 ± 4,49; HI = 41,58 ± 2,22; HH = 40,08 ± 1,72; em gramas, p<0,0001; 2º sem: C = 156,94 ± 5,31; HI = 69,43 ± 2,38; HH = 68,87 ± 3,18; em gramas, p<0,0001; 3º sem: C = 210,64 ± 5,66; HI = 96,24 ± 4,68; HH = 102,83 ± 3,44; em gramas, p<0,0001) (Figura 2C e 2D).

Figura 2 – Consumo alimentar, energético e de macronutrientes durante a gestação e lactação.



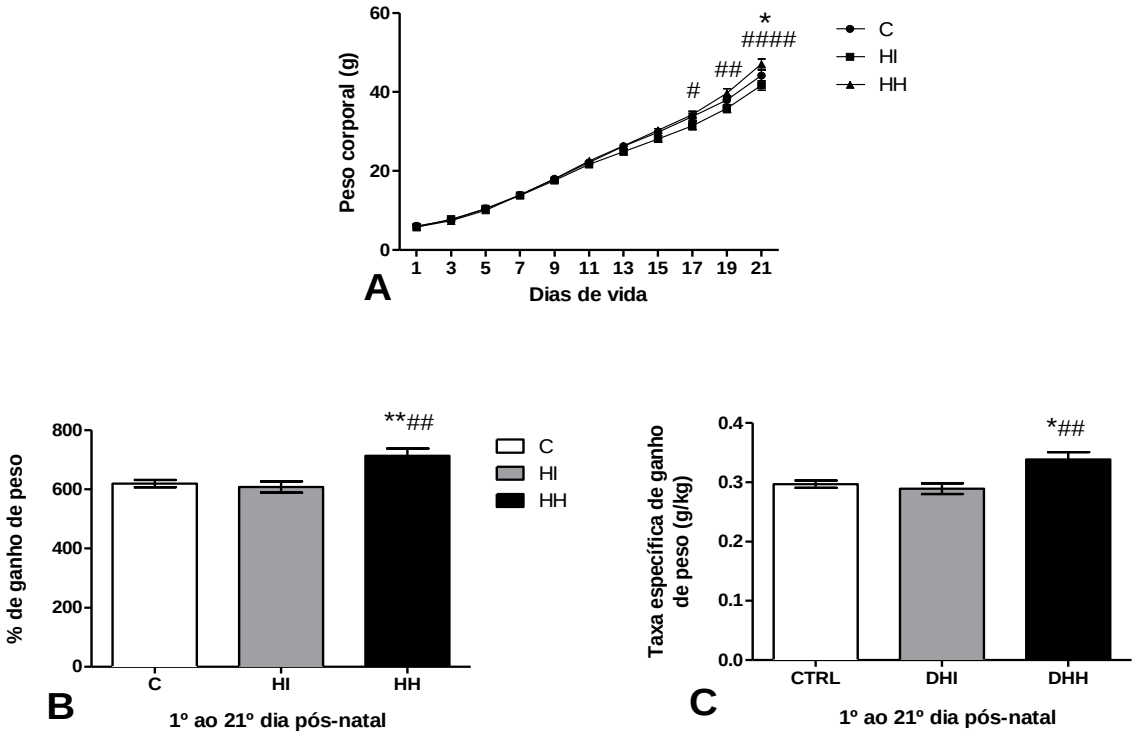
Consumo alimentar semanal (a), energético (b), e de macronutrientes durante a gestação (c) e lactação (d). Grupos: C = grupo controle, (n=11); HI = grupo hiperlipídico isocalórico, (n=9); HH = grupo hiperlipídico hipercalórico, (n=9). Valores expressos em média ± EPM. Teste *two way* ANOVA, seguido do pós-teste Tukey; $^{*}P<0,05$; $^{**}P<0,01$; $^{****}P<0,0001$ *vs.* C; $^{\#}P<0,05$; $^{\#\#\#}P<0,001$ *vs*. HI.

Quanto à prole, foi observado maior peso corporal em DPN17 e DPN19 nos filhotes do grupo hiperlipídico/hipercalórico em relação aos filhotes do grupo hiperlipídico/isocalórico (DPN17: HI = 31,43 ± 1,01; HH = 34,30 ± 0,90; em gramas,

p<0,05; DPN19: HI = 35,80 ± 0,99; HH = 39,68 ± 1,16; em gramas p<0,01) (Figura 3A). Aos 21 dias de idade, os animais HH tiveram maior peso corporal que os demais grupos experimentais (C = 44,17 ± 1,33; HI = 41,66 ± 1,25; HH = 47,07 ± 1,28; em gramas, p<0,05 *vs.* C; p<0,0001 *vs.* HI) (Figura 3A).

A porcentagem de ganho de peso e a taxa específica de ganho de peso avaliadas do 1º ao 21º dia pós-natal, foram maiores nos filhotes HH em relação aos filhotes HI (Porcentagem de ganho de peso: C = 619,50 ± 12,26; HI = 608,00 ± 18,71; HH = 713,40 ± 25,23; em porcentagem, p<0,01; Taxa específica de ganho de peso: C = 0,29 ± 0,01; HI = 0,28 ± 0,01; HH = 0,33 ± 0,01; em gramas/quilogramas, p<0,05 *vs.* C; p<0,01 *vs*. HI) (Figura 3B e 3C).

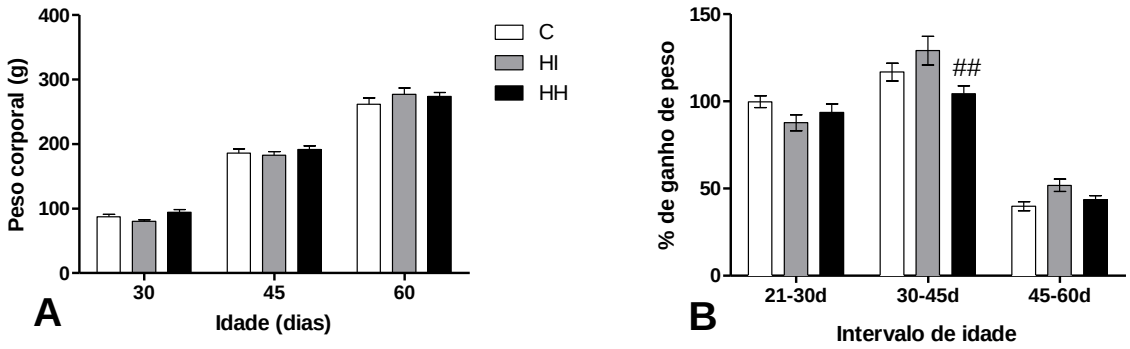
Figura 3 – Peso corporal, porcentagem de ganho de peso e taxa específica de ganho de peso da prole de ratos durante o período de lactação.



Peso corporal (a), porcentagem de ganho de peso (b) taxa específica de ganho de peso (c) da prole de ratos durante o período de lactação. Grupos: C = grupo controle, (n=16); HI = grupo hiperlipídico isocalórico, (n=17); HH = grupo hiperlipídico hipercalórico, (n=18). Valores expressos em média ± EPM. Teste *one way* (b, c) e *two way* ANOVA (a), seguido do pós-teste Tukey; $^{*}P$<0,05; $^{**}P$<0,01 *vs.* C; $^{\#}P$<0,05; $^{\#\#}P$<0,01; $^{\#\#\#\#}P$<0,0001 *vs.* HI.

Após o período de aleitamento, a prole de cada grupo experimental continuou sendo avaliada até os 60 dias de idade. Quanto ao peso corporal, não houve diferenças entre os grupos. No entanto, os animais HH apresentaram menor porcentagem de ganho de peso entre os 30 e 45 dias de idade em relação aos animais do grupo HI (HI = 129,03 ± 8,27; HH = 104,26 ± 4,57; em porcentagem, p<0,01) (Figura 4B).

Figura 4 – Peso corporal e porcentagem de ganho de peso da prole de ratos após o desmame.



Peso corporal (a), porcentagem de ganho de peso (b) da prole de ratos que receberam dieta padrão de laboratório após o desmame. Grupos: C = grupo controle, (n=11); HI = grupo hiperlipídico isocalórico, (n=9); HH = grupo hiperlipídico hipercalórico, (n=11). Valores expressos em média ± EPM. Teste *two way* ANOVA, seguido do pós-teste Tukey; $^{\#\#}P$<0,01 *vs.* HI.

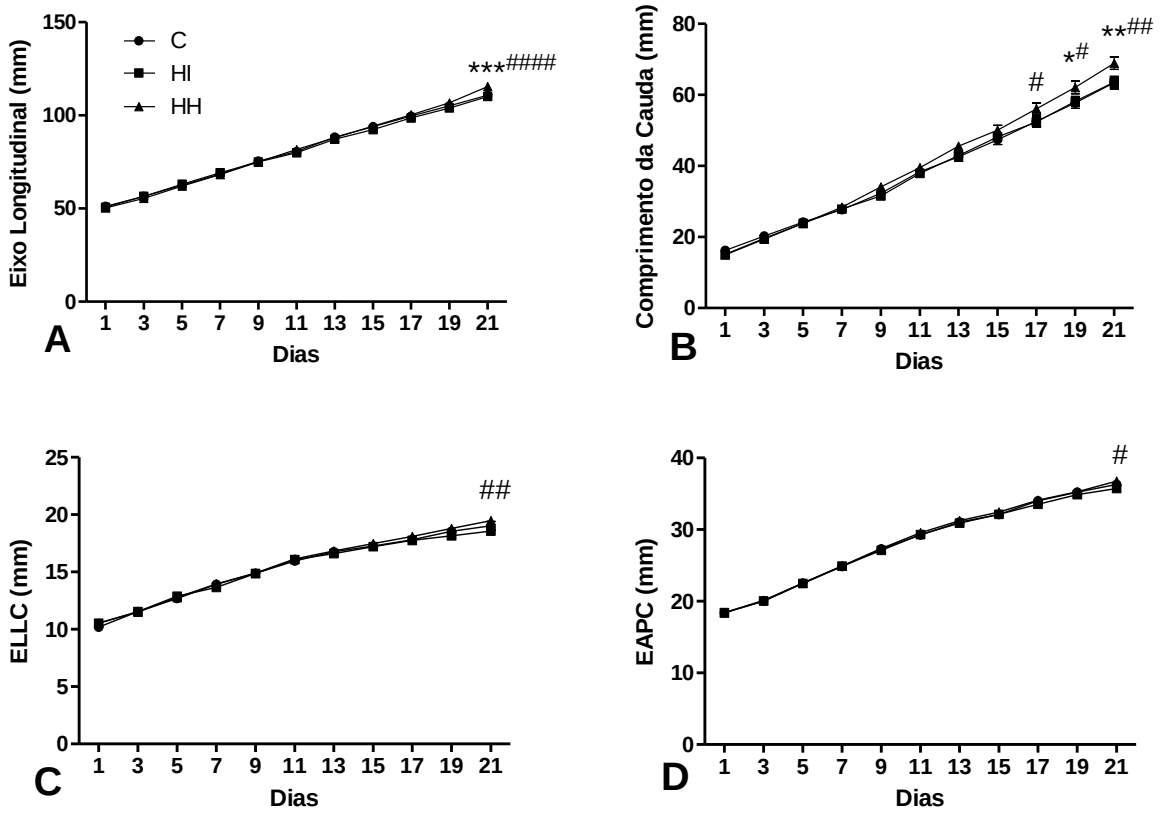
Durante os 21 dias pós-natal, foi avaliado o desenvolvimento somático da prole e observou-se que o tamanho do eixo longitudinal aos 21 dias de idade foi maior nos filhotes do grupo hiperlipídico/hipercalórico quando comparado ao grupo controle e ao grupo hiperlipídico/isocalórico (C = 110,86 ± 1,14; HI = 110,01 ± 1,11; HH = 115,40 ± 1,16; em milímetros, p<0,01 *vs.* C; p<0,0001 *vs.* HI) (Figura 5A).

Quanto ao comprimento da cauda, aos 17 dias de idade, este foi maior no grupo de filhotes cujas mães foram alimentadas com dieta hiperlipídica/hipercalórica quando comparados ao grupo de filhotes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica/isocalórica (HI = 52,36 ± 1,19; HH = 56,01 ± 1,67; em milímetros, p<0,05) (Figura 5B). Aos 19 e 21 dias de idade dos filhotes, o tamanho da cauda foi maior no grupo HH em relação aos demais grupos experimentais (DPN19: C = 57,69 ± 1,48; HI =

58,16 ± 1,40; HH = 62,11 ± 1,78; em milímetros, p<0,05 *vs.* C e HI; DPN21: C = 63,41 ± 1,81; HI = 63,54 ± 1,47; HH = 68,93 ± 1,80; em milímetros, p<0,01 *vs.* C; e HI) (Figura 5B).

Os eixos látero-lateral e ântero-posterior do crânio tiveram maior tamanho aos 21 dias de idade nos filhotes do grupo HH quando comparados aos filhotes do grupo HI (ELLC: HI = 18,57 ± 0,24; HH = 19,50 ± 0,28; em milímetros, p<0,01; EAPC: HI = 35,75 ± 0,30; HH = 36,80 ± 0,39; em milímetros p<0,05) (Figura 5C e 5D).

Figura 5 – Evolução do crescimento somático de ratos machos durante o período de lactação.



Evolução, 1º ao 21º dia pós-natal, do eixo longitudinal (a), comprimento da cauda, (b), eixo látero-lateral do crânio (ELLC) (c), ântero-posterior do crânio (EAPC) (d). Grupos: C = grupo controle, (n=15-29); HI = grupo hiperlipídico isocalórico, (n=17-27); HH = grupo hiperlipídico hipercalórico, (n=18-31). Valores expressos em média ± EPM. Teste *two way* ANOVA, seguido do pós-teste Tukey; $^{*}P$<0,05; $^{**}P$<0,01; $^{***}P$<0,001 *vs.* C; $^{\#}P$<0,05; $^{\#\#}P$<0,01; $^{\#\#\#\#}P$<0,0001 *vs.* HI.

O desenvolvimento das características físicas foi avaliado diariamente desde o primeiro dia de vida dos filhotes de cada grupo experimental até seu aparecimento. Quanto à abertura do conduto auditivo, erupção dos incisivos inferiores e superiores e abertura dos olhos não houve diferença no dia de seu aparecimento quando comparados os grupos experimentais. Contudo, a abertura do pavilhão auditivo ocorreu mais cedo no grupo hiperlipídico/hipercalórico quando comparado com o grupo hiperlipídico/isocalórico ($p<0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5 – Desenvolvimento das características físicas da prole de ratos machos durante o período de lactação.

Características físicas	**Grupos**		
	C	HI	HH
	(n = 15-17)	(n = 17)	(n = 18)
Abertura do pavilhão auditivo	3 (3-4)	4 (3-4)	3 (3-3,25)[b]
Abertura do conduto auditivo	13 (12-13)	12 (12-13)	13 (12-14)
Erupção dos incisivos inferiores	11 (11-12)	11 (10,50-12)	11 (10-11)
Erupção dos incisivos superiores	10 (9-10,50)	10 (8,75-10)	9 (9-10,50)
Abertura dos olhos	15 (14-15)	15 (14-15)	14 (14-15)

Durante o período de aleitamento foi observada a maturação das características físicas da prole de ratos machos. Grupos: C = grupo controle; HI = grupo hiperlipídico isocalórico; HH = grupo hiperlipídico hipercalórico. Valores expressos em mediana (percentil 25 e 75). A significância foi determinada utilizando o teste Kruskal-Wallis, seguido de Dunn's. [b], $p<0,05$ *vs.* HI.

De igual forma, a avaliação da ontogenia de reflexos foi realizada diariamente nos filhotes durante o período de lactação até sua maturação. Foi observado que os filhotes do grupo hiperlipídico/hipercalórico apresentaram atraso para o dia de desaparecimento da preensão palmar, quando comparados aos filhotes do grupo controle ($p<0,05$) (Tabela 6). O reflexo de aversão ao precipício mostrou atraso quanto ao dia de seu aparecimento nos filhotes do grupo hiperlipídico/hipercalórico quando comparados ao grupo controle ($p<0,001$) e ao grupo hiperlipídico/isocalórico ($p<0,05$) (Tabela 5). Contudo, não houve diferença entre os grupos experimentais quanto ao dia da maturação dos reflexos de endireitamento, colocação pelas vibrissas, geotaxia negativa, endireitamento em queda libre e resposta ao susto.

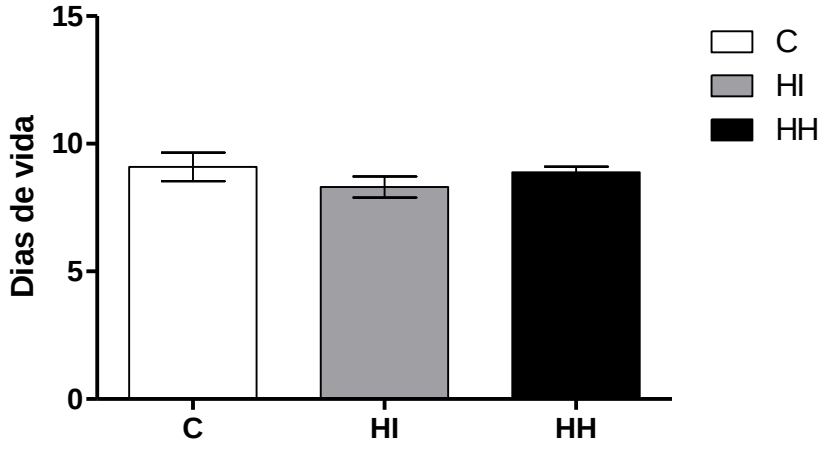
Tabela 6 – Ontogenia de reflexos da prole durante o período de lactação.

Reflexos	**Grupos**		
	C	HI	HH
	(n = 13-15)	(n = 11-13)	(n = 11-14)
Endireitamento	3,64 ± 0,23	4,00 ± 0,37	4,39 ± 0,42
Preensão palmar	5,50 ± 0,29	6,36 ± 0,39	6,85 ± 0,39[a]
Aversão ao precipício	6,93 ± 0,32	7,67 ± 0,38	9,09 ± 0,44[ab]
Colocação pelas vibrissas	8,54 ± 0,33	7,83 ± 0,49	9,18 ± 0,42
Resposta ao susto	12,71 ± 0,19	12,83 ± 0,24	13,00 ± 0,27
Endireitamento em queda livre	13,21 ± 0,49	13,00 ± 0,25	13,08 ± 0,26
Geotaxia negativa	15,86 ± 0,36	16,38 ± 0,35	16,77 ± 0,32

Durante o período de aleitamento foi observada o dia de maturação de reflexos da prole de ratos machos. Grupos: C = grupo controle; HI = grupo hiperlipídico isocalórico; HH = grupo hiperlipídico hipercalórico. Valores expressos em média ± EPM. Teste *one way* ANOVA, seguido do pós-teste Tukey; [a], $p<0,05$ e $p<0,001$ *vs.* C; [b], $p<0,05$ *vs.* HI.

Quanto à maturação motora, que foi avaliada através da marcha, não houve diferenças entre os grupos experimentais (Figura 6).

Figura 6 – Maturação motora da prole de ratos durante o período de aleitamento.



Marcha, avaliada através da idade em que os animais eram capazes de saírem com as patas dianteiras do círculo com diâmetro de 13 cm. Grupos: C = grupo controle, (n=13); HI = grupo hiperlipídico isocalórico (n=13); HH = grupo hiperlipídico hipercalórico, (n=8). Valores expressos em média ± EPM. Teste *one way* ANOVA, seguido do pós-teste Tukey.

As figuras 7 e 8 mostram os resultados da avaliação da atividade locomotora dos animais em DPN8, DPN14, DPN17, DPN21, DPN30, DPN45 e DPN60. São apresentados no texto as diferenças intragrupos (mesmo grupo em diferentes idades) e intergrupos (mesma idade em diferentes grupos). Contudo, nas figuras somente são apresentadas indicações das diferenças intergrupos.

Em relação ao perfil de evolução da atividade locomotora da prole, foi possível observar que a distância percorrida teve aumento progressivo, no grupo controle de DPN14 até DPN30 ($p<0,05$), no grupo de filhotes hiperlipídico/isocalórico somente entre DPN17 e DPN21 ($p<0,001$), e no grupo de filhotes hiperlipídico/hipercalórico de DPN14 até DPN21 ($p<0,0001$). O deslocamento rotacional apresentou aumento progressivo em todos os grupos experimentais entre DPN8 e DPN14 ($p<0,01$) e em ambos os grupos hiperlipídicos entre DPN45 e DPN60 ($p<0,05$). A velocidade média apresentou aumento progressivo, no grupo controle de DPN8 até DPN30 ($p<0,05$) e em ambos os grupos hiperlipídicos de DPN8 até DPN21 ($p<0,001$).

Ao avaliarmos a potencia média produzida, foi observado aumento a partir do desmame até DPN45 no grupo controle ($p<0,05$) e até DPN60 no grupo hiperlipídico/hipercalórico ($p<0,05$) e apenas entre DPN30 e DPN45 no grupo de filhotes hiperlipídico/isocalórico ($p<0,0001$). O gasto energético total apresentou aumento no grupo controle de DPN21 até DPN45 ($p<0,01$), no grupo hiperlipídico/isocalórico apenas entre DPN30 e DPN45 ($p<0,0001$) e no grupo hiperlipídico/hipercalórico de DPN21 até DPN60 dia pós-natal ($p<0,05$). No tempo que o animal permaneceu imóvel no campo, foi observado declínio entre DPN14 e DPN17 ($p<0,05$) e entre DPN17 e DPN21 ($p<0,01$) nos grupos controle e HH, contudo, o grupo hiperlipídico/isocalórico apresentou redução apenas entre DPN17 e DPN21 ($p<0,01$). O número de paradas no campo aberto apresentou aumento entre DPN8 e DPN14 em todos os grupos experimentais ($p<0,05$). O tempo médio gasto em cada parada apresentou redução entre DPN8 e DPN14 em ambos os grupos hiperlipídicos ($p<0,001$).

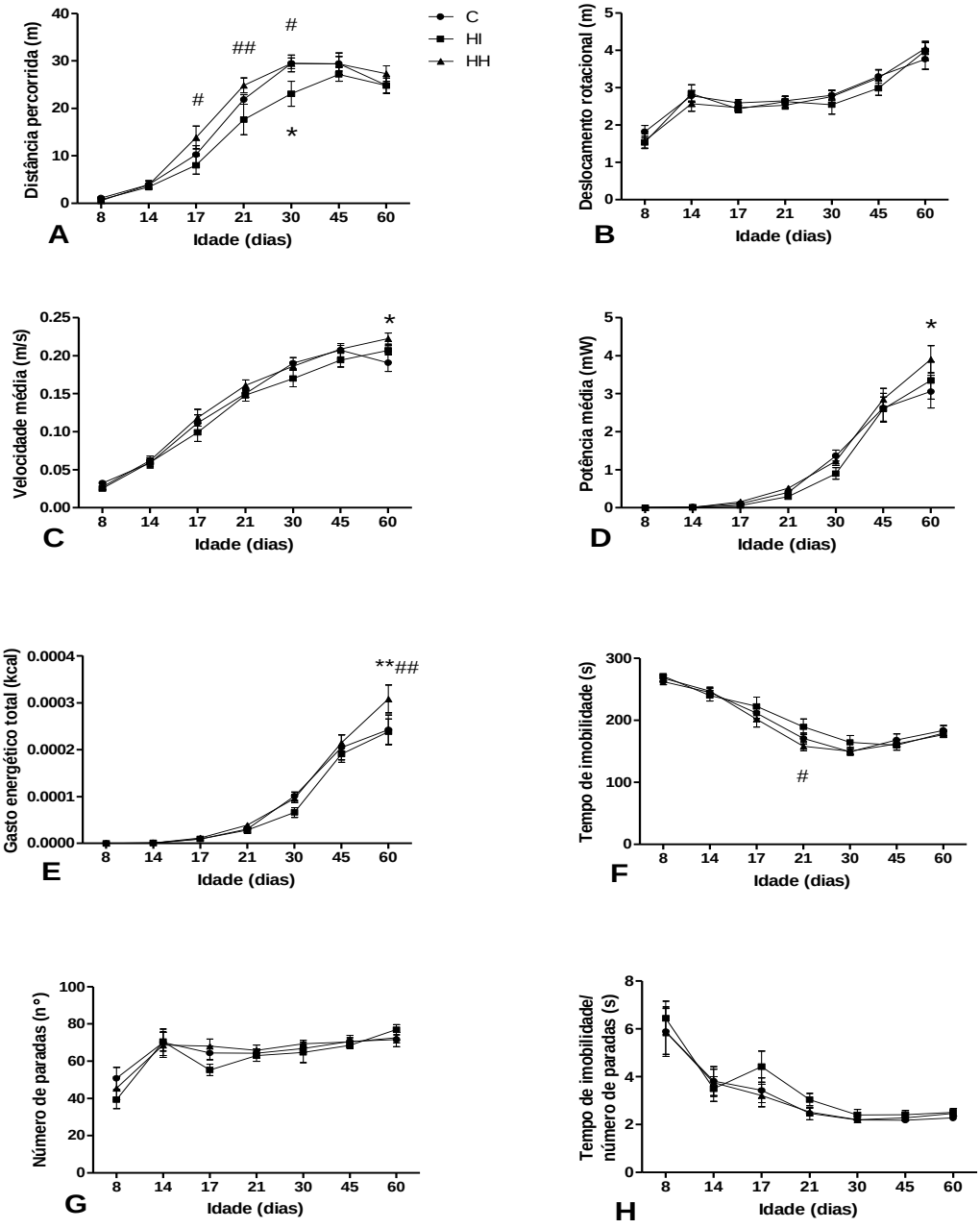
Em relação ao tempo de permanência em cada área do campo, pode-se observar que na área central, o grupo controle e o grupo hiperlipídico/hipercalórico apresentam diminuição no tempo de permanência de DPN8 até DPN17 ($p<0,05$), e no grupo hiperlipídico/isocalórico entre DPN8 e DPN14 ($p<0,001$). Não foram observadas

alterações no tempo de permanência na área intermediária para todos os grupos experimentais. Na área periférica houve aumento no tempo de permanência de DPN8 até DPN17 em todos os grupos experimentais ($p<0,05$).

Na comparação entre os grupos (diferenças apresentadas nas figuras 7 e 8), pode-se observar que a distância percorrida foi maior no grupo de filhotes HH quando comparados com o grupo de filhotes HI no DPN17, DPN21, DPN30 (DPN17 e DPN30: $p<0,05$; DPN21: $p<0,01$) (Figura 7A). Os animais do grupo HI apresentaram menor distância percorrida no DPN30 quando comparados com o grupo controle ($p<0,05$) (Figura 12A). A prole HH apresentou no DPN60 maior velocidade média e potência média quando comparados com a prole do grupo controle (velocidade média e potência média: $p<0,05$) (Figuras 7C e 7D).

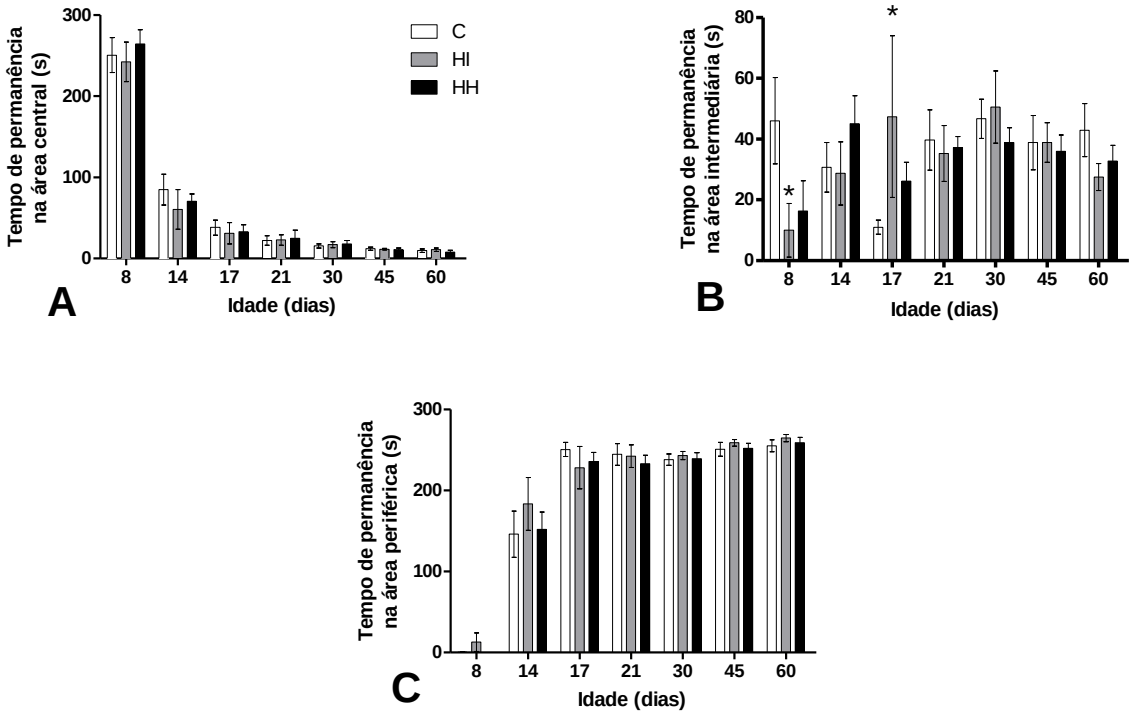
O gasto energético total foi maior na prole do grupo HH quando comparados com os grupos HI e C no DPN60 ($p<0,01$) (Figura 7E). O tempo de imobilidade no grupo de filhotes HH foi menor do que o grupo HI no DPN21 ($P<0,05$) (Figura 7F). No tempo de permanência em cada área do campo, foi observada diferença apenas na área intermediária, em que a prole do grupo HI apresentou menor tempo de permanência no DPN8 ($p<0,05$) (Figura 8B) e maior tempo de permanência no DPN17 ($p<0,05$) (Figura 8B) que o grupo controle. Não houve diferença entre os grupos experimentais no deslocamento rotacional, número de paradas, relação tempo de imobilidade/número de paradas e no tempo de permanência na área central e periférica.

Figura 7 – Efeitos da dieta hiperlipídica isocalórica e hiperlipídica hipercalórica sobre os parâmetros da atividade locomotora.



A prole de ratos no 8º, 14º, 17º, 21º, 30º, 45º, 60º dia pós-natal foram avaliados em campo aberto durante 5 minutos. Distância percorrida (a), deslocamento rotacional (b) velocidade média (c) potência média (d) gasto energético total (e) tempo de imobilidade (f) número de paradas (g) tempo de imobilidade/número de paradas (h). Grupos: C = grupo controle, (n=10-13); HI = grupo hiperlipídico isocalórico, (n=10-13); HH = grupo hiperlipídico hipercalórico, (n=11-14). Valores expressos em média ± EPM. Teste *two way* ANOVA, seguido do pós-teste Tukey; $^{*}P$<0,05; $^{**}P$<0,01 *vs.* C; $^{\#}P$<0,05; $^{\#\#}P$<0,01 *vs.* HI. Para diferenças relacionadas à evolução da locomoção ver texto.

Figura 8 – Efeitos da dieta hiperlipídica isocalórica e hiperlipídica hipercalórica sobre o tempo de permanência em cada área do campo aberto.



A prole de ratos no 8º, 14º, 17º, 21º, 30º, 45º, 60º dia pós-natal foram avaliados em campo aberto durante 5 minutos. Tempo de permanência na área central (a), tempo de permanência na área intermediaria (b) tempo de permanência na área periférica (c). Grupos: C = grupo controle, (n=9-12); HI = grupo hiperlipídico isocalórico, (n=9); HH = grupo hiperlipídico hipercalórico, (n=11-12). Valores expressos em média ± EPM. Teste *two way* ANOVA, seguido do pós-teste Tukey; $^{*}P<0,05$ *vs*. C. Para diferenças relacionadas à evolução da locomoção ver texto.

7 DISCUSSÃO

Estudos mostram que o consumo materno de dietas ricas em lipídeos, principalmente gorduras saturadas de origem animal, durante períodos críticos do desenvolvimento (gestação e/ou lactação) tem sido associado a alterações no desenvolvimento somático e nervoso (FERRO CAVALCANTE et al., 2013; MENDES-DA-SILVA et al., 2014) e neurocomportamental (GIRIKO et al., 2013) da prole. Ademais, outros estudos também têm observado o aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão, diabetes, obesidade e osteoporose (KHAN et al., 2003; ELAHI et al., 2009; LIANG, OEST e PRATER, 2009) na vida adulta dos filhotes.

O presente estudo teve como objetivo avaliar as repercussões de dietas hiperlipídicas materna (isocalórica ou hipercalórica) durante os períodos de gestação e lactação, sobre a ontogenia de reflexos e da atividade locomotora da prole de ratos. De forma geral, nossos resultados mostraram que a dieta hiperlipídica/hipercalórica materna promoveu nos filhotes maior peso corporal, eixo longitudinal e comprimento da cauda no fim da lactação e atraso na maturação de reflexos primitivos em relação à prole controle. No desenvolvimento da atividade locomotora observou-se que os animais HH apresentaram melhor desempenho na velocidade média, potência média e maior gasto energético aos 60 dias de idade em relação ao grupo controle.

No entanto, também foram encontradas diferenças entre os grupos hiperlipídicos. Dentre elas, maior peso corporal, eixo longitudinal, eixos craniais e comprimento da cauda no fim da lactação, antecipação na abertura do pavilhão auditivo e atraso na maturação do reflexo de aversão ao precipício nos animais HH em relação aos HI. No desenvolvimento da atividade locomotora observou-se que os animais HH apresentaram melhor desempenho na distância percorrida até os 30 dias de idade e maior gasto energético aos 60 dias de idade em relação ao grupo HI.

Em relação às mães, foi observado que o consumo alimentar em gramas durante o período de gestação do grupo HH foi 22% menor do que o grupo controle e 17% menor do que o grupo HI. Durante o período de lactação, o consumo alimentar em gramas do grupo HH foi 25% menor do que o grupo controle e 19% menor do que o grupo HI. Contudo, em ambos os períodos (gestação e lactação) não houve diferença na ingestão calórica entre os grupos apesar da diferença de densidade energética entre

as dietas (HH 4,62; C 3,60 e HI 3,64, em kcal/g). Segundo Jacob et al. (2013) esse ajuste na ingestão energética proporcionaria uma ingestão isocalórica nos animais alimentados com dieta hiperlipídica hipercalórica.

Guo e Jen (1995) observaram menor ingestão energética de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica hipercalórica com densidade energética de 5,6 kcal/g durante os períodos de gestação e lactação em relação ao seu grupo controle normolipídico isocalórico (3,60 kcal/g). Por outro lado, Del Prado et al. (1997) observaram maior consumo energético a partir do 8º até o 12º dia da lactação em mães alimentadas com dieta hiperlipídica isocalórica (20 g de lipídeos/100 g de dieta seca) em relação ao grupo que recebeu dieta baixa em lipídeos (2,5 g de lipídeos/100 g de dieta seca).

Em relação ao ganho de peso corporal materno durante os períodos de gestação e lactação não foram observadas diferenças nas mães HH e HI quando comparadas com o grupo controle. Similares resultados foram encontrados em estudos prévios com dieta hiperlipídica/hipercalórica (4,07 kcal/g) isoladamente durante a gestação ou lactação (MENDES-DA-SILVA et al., 2014) e dieta ocidentalizada (4,20 kcal/g) durante ambos os períodos (FERRO CAVALCANTE et al., 2013). Contudo, estudos mostram que apesar da maior ingestão energética durante a lactação (DEL PRADO, DELGADO e VILLALPANDO, 1997) ou menor ingestão energética durante a gestação e lactação (GUO e JEN, 1995), não são observadas diferenças no ganho de peso corporal materno. Keesey e Hirvonen (1997) propuseram a existência de um "ponto de referência do peso corporal" em roedores e humanos, em que a diminuição ou aumento do peso corporal é corrigido pela alteração na ingestão de alimentos e no gasto energético para manter o peso corporal alvo. Esse mecanismo de controle de peso pode explicar porque não encontramos maior peso corporal materno durante a gestação e lactação apesar de haverem consumido dietas hiperlipídicas. A relação entre consumo alimentar e ganho de peso chama-se de conversão alimentar, em que o alimento consumido seria utilizado para o ganho de peso corporal.

Na gestação, observamos que o grupo de mães HH apresentou maior conversão alimentar (CA) que o grupo controle e HI. Desta forma, apesar do menor consumo alimentar apresentado pelo grupo de mães HH, seu ganho de peso não foi diferente aos outros grupos experimentais. No mesmo período, à eficiência energética (EE), que

é a relação entre consumo energético (kcal) e o ganho de peso, foi maior em ambos os grupos hiperlipídicos em relação ao grupo de mães controle.

Estudos em ratas mostram que na segunda metade da gestação é observada, de maneira fisiológica, hiperfagia e hiperinsulinismo materno (KNOPP et al., 1973). Ambos favorecem o depósito de gordura no meio da gestação através da conversão de glicose proveniente dos carboidratos da dieta em triglicerídeos no tecido adiposo materno (KNOPP et al., 1973). Contudo, no final da gestação, essa conversão diminui e estaria associada à redução progressiva do efeito da insulina sob o tecido adiposo materno favorecendo a mobilização de ácidos graxos livres para garantir o crescimento fetal (KNOPP et al., 1973). Segundo Herrera et al. (2006) a principal fonte de ácidos graxos na circulação fetal é representada por ácidos graxos livres.

Durante o período de lactação, às mães HH apresentaram menor conversão alimentar quando comparadas com as mães controle. Diferente de nossos resultados Ferro Cavalcante et al. encontrou maior conversão alimentar e eficiência energética durante o período de lactação em ratas alimentadas com dieta ocidentalizada. Segundo os autores essa maior CA e EE poderiam ter contribuído com o maior peso e crescimento da prole durante o período de lactação.

Em nosso estudo, ambas as dietas hiperlipídicas não causaram diferenças no peso da ninhada, no número e no peso dos filhotes ao nascimento. Semelhantes resultados foram observados com dieta hiperlipídica isocalórica (DEL PRADO, DELGADO e VILLALPANDO, 1997). Contudo, menor peso dos filhotes ao nascimento (MENDES-DA-SILVA et al., 2014) e maior peso da ninhada e dos filhotes ao nascimento (FERRO CAVALCANTE et al., 2013) foram observados com dieta hiperlipídica hipercalórica e com dieta ocidentalizada, respetivamente.

São utilizadas universalmente como indicadores de estado nutricional e de saúde em recém-nascidos, medidas como, peso corporal, estatura e perímetro cefálico (WHO, 1995). Medidas similares (peso corporal, eixo longitudinal, eixo látero-lateral do crânio, eixo ântero-posterior do crânio e comprimento da cauda), chamadas de medidas murinométricas, tem sido um recurso eficiente para estudar os efeitos de manipulações nutricionais e farmacológicas sobre o desenvolvimento somático em ratos (SILVA et al., 2005).

Em nosso estudo, durante o período de lactação observamos maior peso corporal aos 21 dias de idade, maior porcentagem e taxa específica de ganho de peso nos animais HH em relação ao grupo controle. Da mesma forma, apesar de ambos os grupos de animais hiperlipídicos terem a mesma exposição (calórica e lipídica) durante o período de lactação, o grupo de animais HH apresentou maior peso corporal aos 17, 19 e 21 dias de idade e maior porcentagem e taxa específica de ganho de peso que o grupo de animais HI. Uma hipótese levantada neste estudo é que a diferença na quantidade de fibra insolúvel (celulose) utilizada na formulação das dietas hiperlipídicas pode ter modificado a quantidade de lipídeos e o perfil lipídico no leite materno disponibilizado para o grupo HI.

No entanto, Del Prado et al. (1997) analisaram o leite materno de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica isocalórica contendo 25,7 g de celulose/100 g de dieta e observaram que a quantidade de lipídeo no leite materno foi maior em relação ao leite de ratas alimentadas com dieta baixa em gordura contendo 3,6 g de celulose/100 g de dieta. Mostrando que a quantidade de lipídeos no leite materno esteve relacionada com a quantidade de lipídeos da dieta materna e não com a quantidade de fibra utilizada. No mesmo estudo foi avaliada a digestibilidade dos lipídeos e proteína das dietas e não foram encontradas diferenças nas quantidades desses macronutrientes nas fezes dos grupos experimentais (DEL PRADO, DELGADO e VILLALPANDO, 1997). Estudos mostram que as fibras solúveis como pectinas e goma guar tem a capacidade de interferir na absorção de lipídeos no intestino, sequestrando-os e eliminando-os nas fezes (EUFRÁSIO et al., 2009) enquanto que as fibras insolúveis como a celulose teria pouco efeito sobre a absorção de lipídeos (ANDERSON, JONES e RIDDELL-MASON, 1994; KRZYSIK et al., 2011).

Outros estudos têm usado fibra insolúvel (22,5 g ou 34,4g de alphacel/100g de dieta) para compensar a densidade energética de dietas hiperlipídicas com o objetivo de avaliar os efeitos dos lipídeos na prole durante o período de gestação (EBESH et al., 1999) ou lactação (HAUSMAN, MCCLOSKEY e MARTIN, 1991). Segundo os estudos acima citados, nossa dieta hiperlipídica isocalórica (24 g de celulose/100g de dieta) não foge do padrão utilizado em outros estudos experimentais. No entanto, estudos sugerem que dietas com elevado conteúdo de fibras insolúveis podem diminuir a

absorção de minerais (GRALAK et al., 1996) importantes para o crescimento de crianças (TRUMBO et al., 2001). Possivelmente, a quantidade de fibra usada em nossa dieta hiperlipídica isocalórica pode ter prejudicado a absorção desses minerais e consequentemente modulado a composição do leite materno comprometendo o crescimento somático da prole HI em relação à prole HH.

Os lipídeos do leite materno representam uma fonte importante de energia, contribuindo com 40% a 55% do total de energia consumida pelo recém-nascido. Do total de lipídeos do leite materno 98% são triglicerídeos e destes 90% são ácidos graxos dos quais a maioria é sensível à nutrição materna (JENSEN, 1999; INNIS, 2014). Estudos em ratos mostram que a dieta materna com alto teor de gordura está associada a maior crescimento da prole durante o período de lactação (GUO e JEN, 1995; DEL PRADO, DELGADO e VILLALPANDO, 1997; FERRO CAVALCANTE et al., 2013). Entretanto, outros estudos têm encontrado déficit no crescimento somático na prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica (HAUSMAN, MCCLOSKEY e MARTIN, 1991; GIRIKO et al., 2013; MENDES-DA-SILVA et al., 2014).

Em nosso estudo, pudemos observar que além do maior peso corporal, os animais HH apresentaram maior comprimento da cauda em relação ao grupo controle e hiperlipídico/isocalórico nos últimos dias da lactação e maior tamanho dos eixos do crânio aos 21 dias de idade em relação aos animais HI. Entretanto, Ferro Cavalcante et al. (2013) encontraram maior crescimento somático (peso corporal, eixo longitudinal e eixos do crânio) durante todo o período de lactação da prole de mães alimentadas com dieta ocidentalizada (31,5 % de lipídeos da caloria, provenientes da banha de porco, margarina e creme de leite) durante todo o período perinatal.

Contudo, Mendes-da-Silva et al. (2014) observaram menor peso corporal, menor tamanho do eixo longitudinal e dos eixos do crânio na maior parte dos dias avaliados durante o período de lactação na prole de ratos cujas mães foram alimentadas com dieta hiperlipídica hipercalórica (52 % de lipídeos da caloria, principalmente banha de porco) durante a gestação ou durante a lactação. Corroborando com o estudo anterior Giriko et al. (2013) observaram menor tamanho dos eixos do crânio na maior parte dos dias avaliados durante o período de lactação na prole de ratos cujas mães foram alimentadas com dieta hiperlipídica hipercalórica (52 % de lipídeos da caloria,

principalmente banha de porco) durante o período de lactação. Segundo Hausman e colaboradores (1991), os efeitos no crescimento da prole podem ser atribuídos ao tipo ou quantidade dos lipídeos utilizados na formulação de dietas hiperlipídicas materna.

Outro modelo dietético que tem sido usado para avaliação do efeito dos lipídeos no crescimento somático são as dietas cetogênicas as quais tem alto teor de lipídeos e baixas quantidades de carboidratos em sua formulação. Em um estudo Soares et al. (2009) avaliaram os efeitos de dietas cetogênicas administradas durante a gestação e lactação e observou na prole menor crescimento somático (peso corporal, crescimento da cauda, eixo longitudinal e eixos do crânio) durante a maior parte do período de lactação. Estudos sugerem que o balanço entre a quantidade de lipídeos e carboidratos na dieta materna poderia modificar a composição lipídica do leite materno (JENSEN, 1999).

Segundo Jensen e colaboradores (1999) parte dos teores de ácidos graxos saturados como o ácido graxo mirístico (14:0), encontrados no leite materno, podem ser sintetizados na glândula mamária, a partir da glicose proveniente dos carboidratos da dieta. Possivelmente, além do tipo e quantidade de lipídeos usados na formulação das dietas hiperlipídicas, a quantidade de carboidratos tenha influenciado na composição lipídica do leite materno e contribuído no maior crescimento somático como observado em nosso estudo e no estudo com dieta ocidentalizada.

Quanto ao peso corporal após o desmame observamos que os animais HH apresentaram menor crescimento do 30º ao 45º dia pós-natal que o grupo hiperlipídico/isocalórico. No entanto, do 45º ao 60º dia pós-natal, a diferença de pesos não se manteve entre os grupos. Tem sido observado que a prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica hipercalórica durante todo o período perinatal ou parte dele apresentam maior ganho de peso que seus controles no período pós-desmame (GIRIKO et al., 2013; MENDES-DA-SILVA et al., 2014). Isto se relacionaria a uma possível obesidade na vida adulta, pelos efeitos de programação ou modificação durante o período do desenvolvimento que se apresentariam na vida adulta em forma de doenças crônicas como diabetes e hipertensão (ARMITAGE, TAYLOR e POSTON, 2005).

Com o objetivo de acompanhar o desenvolvimento físico da prole a diferentes estímulos, estudos experimentais também se propuseram a avaliar o desenvolvimento de características somáticas. Estudos mostram que em condições fisiológicas e ambientais normais a primeira característica física a apresentar sua maturação é a abertura do pavilhão auditivo (SMART e DOBBING, 1971a), podendo-se apresentar entre DPN2 e DPN3 (MEDEIROS et al., 2015) e entre DPN3 e DPN4 (FERRO CAVALCANTE et al., 2013). Em nosso estudo, a exposição à dieta hiperlipídica hipercalórica materna causou nos filhotes HH antecipação na maturação da abertura do pavilhão auditivo em relação aos animais HI. Ferro Cavalcante et al. (2013) observaram antecipação de todas as características físicas avaliadas em seu estudo (abertura do pavilhão auditivo, abertura do conduto auditivo, erupção dos incisivos e abertura dos olhos) em animais de mães alimentadas com dieta ocidentalizada (4,2 kcal/100g de dieta; 31,5% de lipídeos da caloria; principalmente ácidos graxos saturados) durante a gestação e lactação. Similares resultados foram observados por Santillán et al. (2010) em animais de mães alimentadas com dieta rica em óleo de girassol (3,1 kcal/100g de dieta; 23,3% de lipídeos da caloria) em relação ao grupo óleo de soja (3,1 kcal/100g de dieta; 25,3% de lipídeos da caloria).

Contrário a nossos resultados, Mendes da Silva et al. (2014) encontraram atraso na maturação de todos as características físicas avaliadas (abertura do pavilhão auditivo, abertura do conduto auditivo, erupção dos incisivos e abertura dos olhos) em animais de mães alimentadas com dieta hiperlipídica hipercalórica (4,07 kcal/100g de dieta; 52% de lipídeos da caloria; principalmente saturados) durante o período de lactação. Contudo, quando a prole foi exposta a mesma dieta de forma exclusiva durante o período de gestação, após o nascimento não foi observada alteração na maturação da abertura do pavilhão auditivo.

Segundo Bradamante et al. , no rato, após o nascimento, estruturas da aurícula como os condrócitos ainda estão em processo de transformação e ao mês e meio de vida parecem muito semelhantes às células do tecido adiposo branco. Os resultados acima expostos sugerem que o período de exposição (gestação e/ou lactação) assim como a composição lipídica das dietas hiperlipídicas podem modular estruturas do pavilhão auditivo que ainda estavam em processo de formação. Em nosso estudo, a

dieta hiperlipídica hipercalórica favoreceu a maturação desta característica antecipando-a.

Durante os períodos de gestação e lactação, o desenvolvimento do sistema nervoso depende dos nutrientes transmitidos através da placenta e do leite materno para a prole. Durante esses períodos, estruturas como o cérebro estão em rápido crescimento, e precisam de um suporte nutricional adequado (MORGANE et al., 1993). Estudos mostram que fatores como fármacos (DEIRO et al., 2006; DEIRO et al., 2008), desnutrição (ANSELMO et al., 2006) e mudanças na quantidade e tipo de lipídeos (SOARES et al., 2009; SANTILLAN et al., 2010; FERRO CAVALCANTE et al., 2013; GIRIKO et al., 2013; MENDES-DA-SILVA et al., 2014; SOARES et al., 2014; MEDEIROS et al., 2015) durante o período perinatal podem causar vários efeitos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso central.

A análise do padrão de maturação de reflexos é uma técnica inicialmente utilizada em camundongos para avaliar a maturação e consolidação dos padrões morfofuncionais do SNC durante o período crítico do desenvolvimento (FOX, 1965). Em ratos, Smat e Dobbing (1971a) validaram essa técnica através da avaliação dos seguintes reflexos: preensão palmar, endireitamento, aversão ao precipício, colocação pelas vibrissas, resposta ao susto, colocação visual, geotaxia negativa, endireitamento em queda livre.

Em nosso estudo o grupo de animais HH mostrou atraso na maturação do reflexo de preensão palmar em relação ao grupo controle e de aversão ao precipício em relação aos grupos controle e hiperlipídico/isocalórico. Estudos sugerem que os reflexos de preensão palmar e de aversão ao precipício são marcadores de maturidade das funções sensoriais e motoras associadas ao desenvolvimento (SANTILLAN et al., 2010). Segundo Allam et al. (2012) o reflexo de preensão palmar no rato aparece precocemente (DPN2) e tem um período relativamente longo de maturação, consolidando-se em (DPN9). Similar ontogênese apresenta o reflexo de aversão ao precipício, o qual pode aparecer entre DPN2 e DPN4 (FOX, 1965) e se consolidar entre DPN7 e DPN8 (FERRO CAVALCANTE et al., 2013).

Estudos sugerem que o período de exposição (gestação ou lactação) da prole a dieta hiperlipídica hipercalórica pode ter relação com a maturação de certos reflexos

(MENDES-DA-SILVA et al., 2014). Giriko et al. (2013) observaram atraso na maturação dos reflexos de preensão palmar, endireitamento, colocação pelas vibrissas, geotaxia negativa, resposta ao susto e endireitamento em queda livre na prole de mães alimentadas durante o período de lactação com dieta hiperlipídica hipercalórica rica em ácidos graxos saturados de origem animal. Segundo Smart e Dobbing (1971a), a dieta materna durante a gestação pode afetar diferentes populações de células do sistema nervoso do que na lactação. Possivelmente, a exposição à dieta hiperlipídica hipercalórica de forma exclusiva durante o período de lactação não teve a capacidade de alterar o desenvolvimento das estruturas do sistema nervoso relacionadas com o reflexo de aversão ao precipício, diferente de nosso estudo em que a prole ficou exposta a dieta hiperlipídica hipercalórica durante todo o período perinatal (gestação e lactação).

Da mesma forma, Medeiros et al. (2015) observaram atraso na maturação de reflexos de preensão palmar e de aversão ao precipício nos grupos de animais de mães alimentadas com dieta suplementada com 7% de óleo de buriti bruto ou 7% de óleo de buriti refinado durante o período de gestação e lactação em relação ao grupo controle (7% de óleo de soja). Segundo os autores, provavelmente o conteúdo de lipídeos do óleo de buriti bruto e refinado (ácidos graxos poliinsaturados, monoinsaturados e saturados) interferiu no processo de mielinização. Segundo Salvati e colaboradores (1993), a mielina é rica em ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados. O desenvolvimento da mielina no rato é predominantemente um processo pós-natal, aparece inicialmente na medula espinhal e rombencéfalo (medula oblongata, ponte e cerebelo), e aos 7 dias de idade no prosencéfalo, alcançando a taxa máxima de mielinização aos 20 dias de idade (JACOBSON, 1963).

Segundo Legrand et al. os ácidos graxos saturados podem ser adquiridos no organismo de forma endógena ou através da alimentação. Geralmente representam do 30-40% do total de ácidos graxos em tecidos animais, distribuídos em ácido palmítico (15-25%), ácido esteárico (10-20%), ácido mirístico (0,5-1%) e ácido láurico (menos de 0,5 %). Os ácidos graxos palmítico e esteárico se encontram em altas concentrações em gorduras naturais como a banha de porco (JACOB et al., 2013).

Diferente de nossos resultados, Ferro Cavalcante et al. (2013) observaram antecipação na maturação de todos os reflexos avaliados dentre eles o de preensão palmar e de aversão ao precipício na prole de mães alimentadas com dieta ocidentalizada (14,7% de lipídeos) durante os períodos de gestação e lactação em relação ao grupo controle (7% de lipídeos). Na composição bioquímica, a dieta mostrou ter maior porcentagem de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, (67,59%; 16,47%) respetivamente, e menor porcentagem de ácidos graxos poliinsaturados (15,94%) em relação a seu controle. Estudos mostram que ácidos graxos saturados (esteárico e palmítico) e ácidos graxos monoinsaturados (oleico) estão presentes na dieta ocidentalizada (JACOB et al., 2013; PRIEGO et al., 2013) e podem ser transferidos para a prole através do leite materno (PRIEGO et al., 2013). Os autores sugerem que uma das possíveis causas relacionadas com a antecipação da maturação de reflexos seria os níveis elevados de ácidos graxos monoinsaturados (ácido oleico) presentes na dieta experimental (FERRO CAVALCANTE et al., 2013). O ácido oleico está associado a um fator neurotrófico nas culturas primárias de neurônios e que tem a capacidade de promover a axogênese na região do estriado durante o desenvolvimento do cérebro (MEDINA e TABERNERO, 2002).

Soares et al. (2014) também observaram antecipação na maturação de todos os reflexos avaliados, incluindo os reflexos de preensão palmar e de aversão ao precipício na prole de mães suplementadas com gordura do leite de cabra (7%, fonte de ácido linoleico conjugado) em relação aos grupos controles, óleo de soja (7%, fonte de ácidos graxos poliinsaturados) e óleo de coco (7%, fonte de ácidos graxos saturados como o ácido láurico e mirístico, no entanto deficiente em ácidos graxos poliinsaturados). De acordo com os autores, a presença do ácido linoleico conjugado, junto a uma variedade de ácidos graxos encontrados no leite de cabra pode ter contribuído com mudanças no desenvolvimento do sistema nervoso, como observado através da precoce ontogênese de reflexos (SOARES et al., 2014).

De acordo com os resultados acima descritos, observa-se que o atraso ou antecipação da maturação de reflexos na prole está relacionado com a composição de cada dieta hiperlipídica (quantidade e tipo de lipídeos) utilizada durante os períodos

críticos do desenvolvimento (gestação e ou lactação) já que evidências mostram que lipídeos formam parte das estruturas do sistema nervoso central.

Da integração do sistema nervoso e musculoesquelético, temos o desenvolvimento de diversas funções motoras, incluindo a locomoção (WESTERGA e GRAMSBERGEN, 1990). Em ratos, o padrão de locomoção se desenvolve de acordo com uma sequência cronológica que depende da postura e gravidade (FOX, 1965; GRAMSBERGEN, 1998). Dentre os métodos utilizados para a avaliação da atividade locomotora está a utilização do campo aberto (ARAGAO RDA et al., 2011). Este permite avaliar as propriedades biomecânicas e comportamentais da atividade locomotora em roedores (ARAGAO RDA et al., 2011) que podem ser comprometidas pela restrição (BARROS et al., 2006; SILVA et al., 2016) ou excessos dietéticos (GIRIKO et al., 2013) durante o período critico do desenvolvimento.

As idades escolhidas para a avaliação dos efeitos das dietas hiperlipídicas no desenvolvimento da locomoção no período de lactação foram DPN8, DPN14, DPN17, DPN21, as mesmas que representam marcos no desenvolvimento da locomoção (JAMON, 2006) e após a lactação em DPN30, DPN45 e DPN60, quando o padrão adulto da locomoção se faz presente (BÂ e SERI, 1995).

No desenvolvimento da atividade locomotora, observamos que todos os grupos experimentais tiveram aumento progressivo na distância percorrida a partir da segunda semana pós-natal até o fim da terceira semana, para os grupos hiperlipídicos e até DPN30 para o grupo controle. Estudos mostram que a atividade locomotora de forma natural se desenvolve rapidamente durante a segunda e terceira semana pós-natal (BÂ e SERI, 1995; ARAGAO RDA et al., 2011). Fazendo relação com o desenvolvimento da distância percorrida, o tempo de imobilidade diminuiu no grupo controle e hiperlipídico/hipercalórico a partir da segunda semana pós-natal e no grupo hiperlipídico/isocalórico a partir da metade da terceira semana pós-natal. Essa redução ocorreu até DPN21 em todos os grupos experimentais. Aragão et al. (2011) observaram diminuição no tempo de imobilidade a partir da primeira semana pós-natal até a metade da terceira semana pós-natal. Como observado no estudo de Aragão et al. (2011), a curva de evolução da distância percorrida se contrapõe a curva de evolução do tempo de imobilidade. Estudos sugerem que a partir da terceira semana pós-natal o rato

apresenta maior adaptação ao ambiente, o que estimularia sua atividade exploratória (BÂ e SERI, 1995). Segundo Bâ e Seri (1995), no rato, a atividade exploratória atinge seus valores mais altos entre DPN20 e DPN30. Na evolução do parâmetro de deslocamento rotacional, observamos aumento deste durante a segunda semana pós-natal em todos os grupos experimentais e entre DPN45 e DPN60 unicamente nos grupos hiperlipídicos. Este parâmetro está relacionado aos pequenos deslocamentos no próprio eixo realizados pelos animais. Sendo, inicialmente, representativo das tentativas de se contrapor à gravidade e, posteriormente, mais relacionado a comportamentos realizados no campo (limpeza, lambidas, alongamentos e apoio nas patas traseiras).

Na velocidade média, houve aumento progressivo em todos os grupos experimentais a partir do inicio da segunda semana até o final da terceira semana pós-natal nos grupos hiperlipídicos e até DPN30 no grupo controle. Contudo, tem sido observado que a velocidade média pode aumentar até DPN60 (ARAGAO RDA et al., 2011). Na potência média e no gasto energético, encontramos aumento a partir da terceira semana pós-natal nos grupos controle e hiperlipídico/hipercalórico e a partir da quinta semana pós-natal no grupo hiperlipídico/isocalórico até DPN45 nos grupos controle e hiperlipídico/isocalórico e até DPN60 no grupo hiperlipídico/hipercalórico. Os três parâmetros (velocidade, potência e energia) estão relacionados à capacidade do animal de transformar sua ação muscular em movimento. Observa-se também que a evolução dos parâmetros de potência média e gasto energético foram similares nos três grupos experimentais. Contudo, o grupo HH apresentou maior evolução em ambos os parâmetros que os outros grupos. Esses dados sugerem que o grupo HH teve maior capacidade de promover o deslocamento de sua massa no campo consequentemente com maior gasto energético cinético e maior potência produzida.

Aragão et al. (2011) observaram evolução ondulatória do número de paradas nas idades avaliadas. Enquanto que em nosso estudo apenas observamos aumento do número de paradas durante a segunda semana pós-natal em todos os grupos experimentais. Entretanto, na relação de tempo de imobilidade e número de paradas houve diminuição durante a segunda semana pós-natal apenas em ambos os grupos hiperlipídicos. Similar evolução foi observada em animais não expostos a dieta hiperlipídica (ARAGAO RDA et al., 2011). O primeiro parâmetro está relacionado à

fluidez do movimento, pois se o animal se locomove sem interrupções, ele apresentaria menor número de paradas. Enquanto que o segundo está relacionado ao tempo gasto pelo animal em cada parada. Dessa forma, observa-se que quando o padrão maduro de locomoção se instala os animais tendem a realizar paradas mais curtas.

Na evolução do tempo de permanência nas áreas do campo aberto, observamos que houve diminuição progressiva na área central durante a segunda semana pós-natal em todos os grupos experimentais continuando até a terceira semana pós-natal nos grupos controle e hiperlipídico/hipercalórico. Enquanto que na área periférica houve incremento progressivo a partir da segunda semana até a metade da terceira semana pós-natal em todos os grupos experimentais, coincidindo com o período de incremento da atividade exploratória (BÂ e SERI, 1995). Contudo, na área intermediaria não foi observada diferenças na evolução de cada grupo experimental. É esperado que com o amadurecimento da locomoção os animais procurem áreas mais externas do campo, visto que eles também irão desenvolver, concomitantemente, a tendência de permanecer mais na periferia (tigmotaxia) (TREIT e FUNDYTUS, 1988).

Na comparação entre os grupos, observamos maior distância percorrida no grupo de animais HH aos 17, 21 e 30 dias pós-natal em relação ao grupo HI. No mesmo sentido, os animais HI apresentaram menor distância percorrida em DPN30 em relação ao grupo C. Na prole jovem (60 dias de idade) foi possível observar maior velocidade média, potência média e gasto energético nos animais HH em relação aos animais controle e no último parâmetro também em relação ao grupo HI. No entanto, não foi observada diferença na distância rotacional entre os grupos em nenhuma das idades avaliadas. Quanto a parâmetros relacionados com o comportamento exploratório, pudemos observar menor tempo de imobilidade no grupo HH em DPN21 em relação ao grupo HI. No entanto, no número de paradas e na relação do tempo de imobilidade e número de paradas não foram observadas diferenças entre os grupos. No tempo de permanência nas áreas, apenas observamos diferença na área intermediária no grupo HI em relação ao grupo C, diminuindo o tempo em DPN8 e aumentando o tempo em DPN17.

Estudos na literatura sobre efeitos da dieta materna sobre a locomoção da prole apresentam resultados diversos, desde nenhum efeito (GIRIKO et al., 2013), a aumento

(BRENNEMAN e RUTLEDGE, 1982; KUHN et al., 2013; PAGE, JONES e ANDAY, 2014) ou redução (WRIGHT, LANGLEY-EVANS e VOIGT, 2011) da atividade locomotora. Esses trabalhos apresentam diferenças nas composições das dietas utilizadas e nos aparatos e nos parâmetros utilizados para avaliar a locomoção.

Page et al. (2014) observaram maior atividade locomotora avaliada aos 110 dias de idade, através dos parâmetros de distância percorrida e velocidade média, na prole cujas mães foram alimentadas com dieta hiperlipídica hipercalórica (45% de lipídeos da caloria, principalmente saturados) na pré-gestação, gestação e lactação, independente do tipo de dieta recebida no período pós-desmame. No mesmo estudo não foram observadas diferenças na quantidade de tempo gasto no centro versus periferia, assim como no número de paradas da prole exposta à dieta hiperlipídica hipercalórica precocemente. Contudo, foi associado o excesso de gordura saturada após o desmame com aumento no tempo de imobilidade, assim como no número de paradas. Segundo os autores esses dados sugerem maior emotividade nos animais de mães alimentadas com dieta hiperlipídica hipercalórica durante o período crítico do desenvolvimento (PAGE, JONES e ANDAY, 2014).

Maior atividade locomotora avaliada através do número de cruzamentos no campo também foi observada na prole com 40 dias de idade cujas mães foram alimentadas com dieta rica em óleo de soja (fonte de ácidos graxos poliinsaturados) durante a pré-gestação, gestação e lactação (KUHN et al., 2013). Ademais, prole com 20, 30 dias e adulta (>65 dias) de mães alimentadas com dieta rica em óleo de soja durante a gestação e lactação também apresentou maior atividade expressa através da contagem cumulativa em 60 minutos (BRENNEMAN e RUTLEDGE, 1982). Estes resultados indicam que o lipídeo dietético pode ter um efeito marcado na atividade locomotora.

Estudos com dieta ocidentalizada têm encontrado diferentes efeitos sobre a atividade locomotora da prole. Ferro Cavalcante et al. (2013) encontraram redução do número de paradas aos 8 dias de idade da prole exposta a dieta ocidentalizada durante os períodos de gestação e lactação. Segundos os autores a dieta teria promovido a maturação precoce da atividade locomotora, embora esta não tenha sido mantida até o final da lactação. Contudo, Wright e colaboradores (2011) observaram menor distância

percorrida, assim como menor latência para entrar na zona central às 10 semanas de idade, na prole de mães alimentadas com dieta ocidentalizada, durante o período de lactação independentemente do tipo de dieta (controle ou ocidentalizada) ofertada nos períodos de pré-gestação ou gestação. No mesmo estudo, não foram observadas diferenças no tempo de permanência na área central do campo aberto. Os autores sugerem que a dieta materna ocidentalizada apresentaria efeito ansiolítico na prole (WRIGHT, LANGLEY-EVANS e VOIGT, 2011). Em ambas as abordagens, a mudança do lipídeo da dieta afeta importantes processos da circuitaria do sistema nervoso central.

Por outro lado, estudos sugerem que o desenvolvimento do cérebro da prole pode ser vulnerável aos efeitos da lipotoxicidade (peroxidação lipídica) que é induzida pela dieta materna rica em gordura saturada (TOZUKA, WADA e WADA, 2009), interrompendo a neurogênese do hipocampo (LINDQVIST et al., 2006; NICULESCU e LUPU, 2009) e, consequentemente, prejudicando a aprendizagem e memória (PAGE, JONES e ANDAY, 2014). Esta lipotoxicidade seria capaz de ativar uma série de cascatas de sinalização de stress, incluindo citoquinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo, que prejudicariam o desenvolvimento neurológico da prole, afetando a proliferação e diferenciação neuronal de células progenitoras no hipocampo (NICULESCU e LUPU, 2009; GIRIKO et al., 2013).

Apesar de que estudos sugerem que, maior atividade locomotora estaria relacionada com maior emotividade (ansiedade) nos animais. Nossos resultados não sustentam a hipótese de comportamento mais ansioso nos animais HH, apesar de apresentarem maior atividade locomotora (maior distância percorrida e menor imobilidade), já que no tempo de permanência nas áreas do campo (central e periférica) não foram observadas diferenças entre os grupos em nenhuma das idades avaliadas.

O teste de campo aberto foi originalmente descrito para o estudo da emotividade em ratos (HALL, 1934), contudo, atualmente, ele é utilizado para análises diversas além desta (ARAGAO RDA et al., 2011). Por exemplo, o sistema de extração de dados utilizado por nosso grupo de pesquisa permite fazer a análise de parâmetros mais relacionados à produção do movimento utilizando o campo aberto como aparato (ARAGAO RDA et al., 2011). Desta forma, observamos que os animais HH

apresentaram maior distância percorrida durante o período de lactação e maior velocidade e potência média aos 60 dias de idade.

Estudos sugerem que os hormônios tireoidianos atuam sobre a formação de tecidos, incluindo o musculo esquelético (MULLER et al., 1994; LEE, KIM e MILANESI, 2014). Foi observado que o nível de T3 e a atividade da enzima deionidase 2 (DIO2) aumentaram significativamente após o nascimento em camundongos (DENTICE et al., 2010), contribuindo na transição da fibra muscular fetal para a fibra muscular adulta. Alterações musculares funcionais são comuns tanto no hipertireoidismo quanto no hipotireoidismo (SIMONIDES e VAN HARDEVELD, 2008). O consumo de dietas hiperlipídicas ricas em ácidos graxos saturados tem mostrado alteração na morfologia da glândula tireoide (SHAO et al., 2014) alterando consequentemente a formação e liberação dos hormônios tiroidianos (HAN et al., 2012; SHAO et al., 2014). Shao et al. observaram aumento do tamanho e do depósito de triglicerídeos na glândula tireoide de ratos com 6 semanas de idade alimentados por 24 semanas com dieta hiperlipídica hipercalórica (4,14 kcal/g) rica em ácidos graxos saturados provenientes da banha de porco. Os animais mostraram níveis marcadamente baixos de proteínas relacionadas com a síntese de hormônios da tireoide, apresentando níveis séricos de T4 baixos e consequentemente com TSH aumentada. Em nosso estudo, é possível que a dieta hiperlipídica hipercalórica materna tenha influenciado na formação e liberação dos hormônios tireoidianos na prole HH, modulando a funcionalidade muscular e favorecendo o desempenho locomotor durante o período de lactação, assim como após o desmame.

Assim como em outros parâmetros avaliados neste estudo, os grupos hiperlipídicos não apresentaram o mesmo desenvolvimento e comportamento locomotor. Possivelmente a elevada quantidade de fibra insolúvel utilizada na dieta hiperlipídica isocalórica pode ter comprometido a absorção materna de minerais dentre eles o de zinco (GRALAK et al., 1996). O zinco é essencial para a formação e migração de neurônios juntamente com a formação de sinapses neuronais. Sua deficiência pode interferir na formação de vias neurais e na neurotransmissão, afetando o comportamento (por exemplo, atenção, temperamento) e desenvolvimento (por exemplo, habilidades motoras fina e grossa) (GOGIA e SACHDEV, 2012).

Em resumo, pudemos observar que a prole cujas mães receberam dieta hiperlipídica hipercalórica na gestação e lactação atrasou a maturação dos reflexos primitivos, contudo, apresentou melhor desempenho locomotor no final da lactação e no final da adolescência.

8 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que as mães de ambos os grupos hiperlipídicos (hipercalórico e isocalórico) tiveram consumo energético isocalórico durante a gestação e lactação, consequentemente não apresentaram diferenças no peso corporal, mostrando que as dietas hiperlipídicas não alteraram o balanço energético. Na gestação, foi observado maior conversão alimentar no grupo de mães HH, assim como maior eficiência energética em ambos os grupos hiperlipídicos, mostrando que a quantidade consumida em gramas e em calorias, respetivamente, foi suficiente para o ganho de peso das mães. No entanto, durante a lactação o grupo de mães HH apresentou menor conversão alimentar.

Contudo, apesar da menor conversão alimentar o grupo de mães HH conseguiu manter o desenvolvimento somático da prole durante o período de lactação. Este fato pode ser observado pelos maiores valores em todas as medições murinométricas realizadas, seja em relação ao grupo C ou HI. Os efeitos da dieta HH sobre o crescimento somático dos animais HH foram diferentes (maior crescimento) do observado nos animais HI, possivelmente a quantidade de fibra insolúvel (celulose) utilizada na formulação da dieta, pode ter prejudicado a absorção de micronutrientes importantes para o crescimento. Entretanto, a literatura mostra que dietas hiperlipídicas altas em fibra insolúvel interferem pouco ou não interferem na absorção de lipídeos a nível intestinal, assim como, na passagem dos lipídeos através do leite materno.

Pudemos observar que a prole exposta à dieta hiperlipídica hipercalórica durante a gestação e lactação mostrou antecipação na maturação da abertura do pavilhão auditivo e atraso na maturação de reflexos primitivos, de preensão palmar e de aversão ao precipício durante o período de lactação, contudo, o desenvolvimento locomotor dos animais não foi prejudicado, apresentando melhor desempenho locomotor no fim da lactação e da adolescência.

8.1 Perspectivas

Em vista que alguns questionamentos foram levantados no decorrer deste trabalho, sugerem-se as seguintes perspectivas:

Nas mães:

- Avaliar a composição corporal através do peso da gordura abdominal e do peso da carcaça.
- Avaliar nas fezes a digestibilidade da dieta hiperlipídica/isocalórica.
- Avaliar a composição lipídica do leite materno de ambas as dietas hiperlipídicas.

Na prole:

- Avaliar as repercussões tardias da exposição a dietas hiperlipídicas durante a gestação e lactação sobre o desenvolvimento da atividade locomotora na idade adulta.
- Analisar os níveis de hormônios tireoidianos para correlacionar com os resultados encontrados na avaliação da atividade locomotora.
- Tipificar a fibra muscular para identificar possíveis mudanças morfofuncionais.

REFERÊNCIAS

ALLAM, A. A.; ABO-ELENEEN, R. E. The development of sensorimotor reflexes in albino mice; albino rats and black-hooded rats. **Int J Dev Neurosci,** v. 30, n. 7, p. 545-553, Nov 2012.

ANDERSON, J. W.; JONES, A. E.; RIDDELL-MASON, S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. **J Nutr,** v. 124, n. 1, p. 78-83, Jan 1994.

ANSELMO, C. W. et al. Influence of a 60 Hz, 3 microT, electromagnetic field on the reflex maturation of Wistar rats offspring from mothers fed a regional basic diet during pregnancy. **Nutr Neurosci,** v. 9, n. 5-6, p. 201-206, Oct-Dec 2006.

ARAGAO RDA, S. et al. Automatic system for analysis of locomotor activity in rodents--a reproducibility study. **J Neurosci Methods,** v. 195, n. 2, p. 216-221, Feb 15 2011.

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, n. Pt 2, p. 355-377, Dec 1 2004.

ARMITAGE, J. A.; TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. **J Physiol,** v. 565, n. Pt 1, p. 3-8, May 15 2005.

AUED-PIMENTEL, S. et al. Trans fatty acids in refined polyunsaturated vegetable oils commercialized in the city of Sao Paulo, Brazil. **Ciencia E Tecnologia De Alimentos,** v. 29, n. 3, p. 646-651, Jul-Sep 2009.

BÂ, A.; SERI, B. V. Psychomotor functions in developing rats: ontogenetic approach to structure-function relationships. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 19, n. 3, p. 413-425, Fall 1995.

BARKER, D. J. The developmental origins of adult disease. **Eur J Epidemiol,** v. 18, n. 8, p. 733-736, 2003.

_____. The origins of the developmental origins theory. **J Intern Med,** v. 261, n. 5, p. 412-417, May 2007.

BARROS, K. M. et al. A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutr Neurosci,** v. 9, n. 1-2, p. 99-104, Feb-Apr 2006.

BAUTISTA, C. J. et al. Changes in milk composition in obese rats consuming a high-fat diet. **Br J Nutr,** v. 115, n. 3, p. 538-546, Feb 14 2016.

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, n. 3, p. 331-339, Mar 2004.

BAYOL, S. A.; BRUCE, C. R.; WADLEY, G. D. Growing healthy muscles to optimise metabolic health into adult life. **J Dev Orig Health Dis,** v. 5, n. 6, p. 420-434, Dec 2014.

BAYOL, S. A.; FARRINGTON, S. J.; STICKLAND, N. C. 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, n. 4, p. 843-851, Oct 2007.

BAYOL, S. A. et al. Evidence that a maternal "junk food" diet during pregnancy and lactation can reduce muscle force in offspring. **Eur J Nutr,** v. 48, n. 1, p. 62-65, Feb 2009.

BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; STICKLAND, N. C. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. **J Physiol,** v. 567, n. Pt 3, p. 951-961, Sep 15 2005.

BENTO-SANTOS, A. et al. Critérios para escolha da amostra em experimentos com ratos Wistar. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciências e Animais de Laboratório,** v. 1, p. 121-129, 2012.

BILBO, S. D.; TSANG, V. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. **FASEB J,** v. 24, n. 6, p. 2104-2115, Jun 2010.

BRADAMANTE, Z. et al. Differentiation of the secondary elastic cartilage in the external ear of the rat. **Int J Dev Biol,** v. 35, n. 3, p. 311-320, Sep 1991.

BRENNEMAN, D. E.; RUTLEDGE, C. O. Effect of dietary lipid on locomotor activity and response to psychomotor stimulants. **Psychopharmacology (Berl),** v. 76, n. 3, p. 260-264, 1982.

BRETT, K. E. et al. Maternal-fetal nutrient transport in pregnancy pathologies: the role of the placenta. **Int J Mol Sci,** v. 15, n. 9, p. 16153-16185, 2014.

BROCARD, F.; VINAY, L.; CLARAC, F. Development of hindlimb postural control during the first postnatal week in the rat. **Brain Res Dev Brain Res,** v. 117, n. 1, p. 81-89, Oct 20 1999.

CABANA, T. et al. The ontogenic development of sensorimotor reflexes and spontaneous locomotion in the Mongolian gerbil (Meriones unguiculatus). **Brain Res Bull,** v. 30, n. 3-4, p. 291-301, 1993.

CARDENAS, L. et al. Enriched environment restricted to gestation accelerates the development of sensory and motor circuits in the rat pup. **Int J Dev Neurosci,** v. 41, p. 68-73, Apr 2015.

CASSIDY, G.; PFLIEGER, J. F.; CABANA, T. The ontogenesis of sensorimotor reflexes in the Mongolian gerbil Meriones unguiculatus. **Behav Brain Res,** v. 52, n. 2, p. 143-151, Dec 31 1992.

CLANDININ, M. T. Brain development and assessing the supply of polyunsaturated fatty acid. **Lipids,** v. 34, n. 2, p. 131-137, Feb 1999.

CLARAC, F. et al. Role of gravity in the development of posture and locomotion in the neonatal rat. **Brain Res Brain Res Rev,** v. 28, n. 1-2, p. 35-43, Nov 1998.

DE OLIVEIRA, E. P. et al. Dietary factors associated with metabolic syndrome in Brazilian adults. **Nutr J,** v. 11, p. 13, 2012.

DEIRO, T. C. et al. Neonatal exposure to citalopram, a serotonin selective reuptake inhibitor, programs a delay in the reflex ontogeny in rats. **Arq Neuropsiquiatr,** v. 66, n. 3B, p. 736-740, Sep 2008.

DEIRO, T. C. et al. Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats. **Physiol Behav,** v. 87, n. 2, p. 338-344, Feb 28 2006.

DEL PRADO, M.; DELGADO, G.; VILLALPANDO, S. Maternal lipid intake during pregnancy and lactation alters milk composition and production and litter growth in rats. **J Nutr,** v. 127, n. 3, p. 458-462, Mar 1997.

DENTICE, M. et al. The FoxO3/type 2 deiodinase pathway is required for normal mouse myogenesis and muscle regeneration. **J Clin Invest,** v. 120, n. 11, p. 4021-4030, Nov 2010.

DOBBING, J. The effect of undernutrition on myelination in the central nervous system. **Biol Neonat,** v. 9, n. 1, p. 132-147, 1965.

EBESH, O. et al. Combined effect of high-fat diet and copper deficiency during gestation on fetal copper status in the rat. **Biol Trace Elem Res,** v. 67, n. 2, p. 139-150, Feb 1999.

ELAHI, M. M. et al. Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. **Br J Nutr,** v. 102, n. 4, p. 514-519, Aug 2009.

ELIAS, S. L.; INNIS, S. M. Infant plasma trans, n-6, and n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation, and birth weight and length. **Am J Clin Nutr,** v. 73, n. 4, p. 807-814, Apr 2001.

EUFRÁSIO, M. R. et al. Efeito de diferentes tipos de fibras sobre frações lipídicas do sangue e fígado de ratos wistar. **Ciênc. agrotec.,** v. 33, n. 6, 2009.

FERRO CAVALCANTE, T. C. et al. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids,** v. 48, n. 11, p. 1157-1168, Nov 2013.

FOX, W. M. Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. **Anim Behav,** v. 13, n. 2, p. 234-241, Apr-Jul 1965.

GARCIA-PATTERSON, A. et al. In human gestational diabetes mellitus congenital malformations are related to pre-pregnancy body mass index and to severity of diabetes. **Diabetologia,** v. 47, n. 3, p. 509-514, Mar 2004.

GEISLER, H. C.; WESTERGA, J.; GRAMSBERGEN, A. The function of the long back muscles during postural development in the rat. **Behav Brain Res,** v. 80, n. 1-2, p. 211-215, Oct 1996.

GIBSON, R. A.; NEUMANN, M. A.; MAKRIDES, M. Effect of dietary docosahexaenoic acid on brain composition and neural function in term infants. **Lipids,** v. 31 Suppl, p. S177-181, Mar 1996.

GIRIKO, C. A. et al. Delayed physical and neurobehavioral development and increased aggressive and depression-like behaviors in the rat offspring of dams fed a high-fat diet. **Int J Dev Neurosci,** v. 31, n. 8, p. 731-739, Dec 2013.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; PINAL, C. The developmental origins of adult disease. **Matern Child Nutr,** v. 1, n. 3, p. 130-141, Jul 2005.

GOGIA, S.; SACHDEV, H. S. Zinc supplementation for mental and motor development in children. **Cochrane Database Syst Rev,** v. 12, p. CD007991, Dec 12 2012.

GRALAK, M. A. et al. Comparison of the influence of dietary fibre sources with different proportions of soluble and insoluble fibre on Ca, Mg, Fe, Zn, Mn and Cu apparent absorption in rats. **Arch Tierernahr,** v. 49, n. 4, p. 293-299, 1996.

GRAMSBERGEN, A. Posture and locomotion in the rat: independent or interdependent development? **Neurosci Biobehav Rev,** v. 22, n. 4, p. 547-553, Jul 1998.

GRAMSBERGEN, A. et al. The activation of back muscles during locomotion in the developing rat. **Brain Res Dev Brain Res,** v. 112, n. 2, p. 217-228, Feb 5 1999.

GUO, F.; JEN, K. L. High-fat feeding during pregnancy and lactation affects offspring metabolism in rats. **Physiol Behav,** v. 57, n. 4, p. 681-686, Apr 1995.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia,** v. 35, n. 7, p. 595-601, Jul 1992.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology,** v. 18, n. 3, p. 385-403, 1934.

HAN, H. et al. Excess iodine and high-fat diet combination modulates lipid profile, thyroid hormone, and hepatic LDLr expression values in mice. **Biol Trace Elem Res,** v. 147, n. 1-3, p. 233-239, Jun 2012.

HANSON, M. A.; GLUCKMAN, P. D. Developmental origins of health and disease: Moving from biological concepts to interventions and policy. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, 2011.

HAUSMAN, D. B.; MCCLOSKEY, H. M.; MARTIN, R. J. Maternal dietary fat type influences the growth and fatty acid composition of newborn and weanling rats. **J Nutr,** v. 121, n. 12, p. 1917-1923, Dec 1991.

HERRERA, E. Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. **Endocrine,** v. 19, n. 1, p. 43-55, Oct 2002.

HERRERA, E. et al. Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. **Horm Res,** v. 65 Suppl 3, p. 59-64, 2006.

IBRAHIM, A. et al. Impact of maternal dietary fatty acid composition on glucose and lipid metabolism in male rat offspring aged 105 d. **Br J Nutr,** v. 102, n. 2, p. 233-241, Jul 2009.

INNIS, S. M. Trans fatty intakes during pregnancy, infancy and early childhood. **Atheroscler Suppl,** v. 7, n. 2, p. 17-20, May 2006.

_____. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. **Am J Clin Nutr,** v. 99, n. 3, p. 734S-741S, Mar 2014.

INNIS, S. M.; KING, D. J. trans Fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential all-cis n-6 and n-3 fatty acids and determine trans, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. **Am J Clin Nutr,** v. 70, n. 3, p. 383-390, Sep 1999.

JACOB, P. S. et al. Isocaloric intake of a high-fat diet promotes insulin resistance and inflammation in Wistar rats. **Cell Biochem Funct,** v. 31, n. 3, p. 244-253, Apr 2013.

JACOBSON, S. Sequence of Myelinization in the Brain of the Albino Rat. A. Cerebral Cortex, Thalamus and Related Structures. **J Comp Neurol,** v. 121, p. 5-29, Aug 1963.

JAMON, M. The early development of motor control in neonate rat. **Comptes Rendus Palevol,** v. 5, n. 3-4, p. 657-666, 2006.

JENSEN, R. G. Lipids in human milk. **Lipids,** v. 34, n. 12, p. 1243-1271, Dec 1999.

JORDAN, L. M. et al. Descending command systems for the initiation of locomotion in mammals. **Brain Res Rev,** v. 57, n. 1, p. 183-191, Jan 2008.

JUMPSEN, J. et al. Small changes of dietary (n-6) and (n-3)/fatty acid content ration alter phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine fatty acid composition during development of neuronal and glial cells in rats. **J Nutr,** v. 127, n. 5, p. 724-731, May 1997.

KEESEY, R. E.; HIRVONEN, M. D. Body weight set-points: determination and adjustment. **J Nutr,** v. 127, n. 9, p. 1875S-1883S, Sep 1997.

KHAN, I. Y. et al. Gender-linked hypertension in offspring of lard-fed pregnant rats. **Hypertension,** v. 41, n. 1, p. 168-175, Jan 2003.

KNOPP, R. H. et al. Two Phases of Adipose Tissue Metabolism in Pregnancy: Maternal Adaptations for Fetal Growth. **Endocrinology,** v. 92, n. 4, p. 984-988, 1973.

KOLETZKO, B. et al. Physiological aspects of human milk lipids. **Early Hum Dev,** v. 65 Suppl, p. S3-S18, Nov 2001.

KRZYSIK, M. et al. Effect of cellulose, pectin and chromium(III) on lipid and carbohydrate metabolism in rats. **J Trace Elem Med Biol,** v. 25, n. 2, p. 97-102, Apr 2011.

KUHN, F. T. et al. Influence of trans fat and omega-3 on the preference of psychostimulant drugs in the first generation of young rats. **Pharmacol Biochem Behav,** v. 110, p. 58-65, Sep 2013.

LAPOINTE, G.; NOSAL, G. A rat model of neurobehavioral development. **Experientia,** v. 35, n. 2, p. 205-207, Feb 15 1979.

LEE, J. W.; KIM, N. H.; MILANESI, A. Thyroid Hormone Signaling in Muscle Development, Repair and Metabolism. **J Endocrinol Diabetes Obes,** v. 2, n. 3, p. 1046, Jul-Sep 2014.

LEGRAND, P.; RIOUX, V. The complex and important cellular and metabolic functions of saturated fatty acids. **Lipids,** v. 45, n. 10, p. 941-946, Oct 2010.

LELARD, T. et al. Postural development in rats. **Exp Neurol,** v. 202, n. 1, p. 112-124, Nov 2006.

LIANG, C.; OEST, M. E.; PRATER, M. R. Intrauterine exposure to high saturated fat diet elevates risk of adult-onset chronic diseases in C57BL/6 mice. **Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol,** v. 86, n. 5, p. 377-384, Oct 2009.

LINDQVIST, A. et al. High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. **Eur J Neurol,** v. 13, n. 12, p. 1385-1388, Dec 2006.

LOPES DE SOUZA, S. et al. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **Eur J Neurosci,** v. 27, n. 6, p. 1400-1408, Mar 2008.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Braz J Biol,** v. 62, n. 4A, p. 609-614, Nov 2002.

MATHIAS, P. C. et al. Maternal diet, bioactive molecules, and exercising as reprogramming tools of metabolic programming. **Eur J Nutr,** v. 53, n. 3, p. 711-722, Apr 2014.

MEDEIROS, M. C. et al. Buriti oil (Mauritia flexuosa L.) negatively impacts somatic growth and reflex maturation and increases retinol deposition in young rats. **Int J Dev Neurosci,** v. 46, p. 7-13, Nov 2015.

MEDINA, J. M.; TABERNERO, A. Astrocyte-synthesized oleic acid behaves as a neurotrophic factor for neurons. **J Physiol Paris,** v. 96, n. 3-4, p. 265-271, Apr-Jun 2002.

MENDES-DA-SILVA, C. et al. Maternal high-fat diet during pregnancy or lactation changes the somatic and neurological development of the offspring. **Arq Neuropsiquiatr,** v. 72, n. 2, p. 136-144, Feb 2014.

MILES, F. A.; EVARTS, E. V. Concepts of motor organization. **Annu Rev Psychol,** v. 30, p. 327-362, 1979.

MORGANE, P. J. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 17, n. 1, p. 91-128, Spring 1993.

MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 26, n. 4, p. 471-483, Jun 2002.

MUIR, G. D. Early ontogeny of locomotor behaviour: a comparison between altricial and precocial animals. **Brain Res Bull,** v. 53, n. 5, p. 719-726, Nov 15 2000.

MULLER, A. et al. Differential effects of thyroid hormone on the expression of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase isoforms in rat skeletal muscle fibers. **Biochem Biophys Res Commun,** v. 203, n. 2, p. 1035-1042, Sep 15 1994.

NICULESCU, M. D.; LUPU, D. S. High fat diet-induced maternal obesity alters fetal hippocampal development. **Int J Dev Neurosci,** v. 27, n. 7, p. 627-633, Nov 2009.

NOVELLI, E. L. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Lab Anim,** v. 41, n. 1, p. 111-119, Jan 2007.

OZANNE, S. E.; HALES, C. N. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. **Nature,** v. 427, n. 6973, p. 411-412, Jan 29 2004.

PAGE, K. C.; JONES, E. K.; ANDAY, E. K. Maternal and postweaning high-fat diets disturb hippocampal gene expression, learning, and memory function. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,** v. 306, n. 8, p. R527-537, Apr 15 2014.

PRIEGO, T. et al. Maternal dietary fat affects milk fatty acid profile and impacts on weight gain and thermogenic capacity of suckling rats. **Lipids,** v. 48, n. 5, p. 481-495, May 2013.

RAYGADA, M.; CHO, E.; HILAKIVI-CLARKE, L. High maternal intake of polyunsaturated fatty acids during pregnancy in mice alters offsprings' aggressive behavior, immobility in the swim test, locomotor activity and brain protein kinase C activity. **J Nutr,** v. 128, n. 12, p. 2505-2511, Dec 1998.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C., JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr,** v. 123, n. 11, p. 1939-1951, Nov 1993.

ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J. The cafeteria diet as a tool for studies of thermogenesis. **J Nutr,** v. 118, n. 8, p. 925-928, Aug 1988.

SALVATI S, M.-C. L., BENEDETTI P. C, DI FELICE M, GENTILE V, NARDINI M, TOMASSI G. Effects of dietary oils on fatty acid composition and lipid peroxidation of brain membranes (myelin and synaptosomes) in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry,** v. 4, n. 6, p. 346–350, 1993.

SANTILLAN, M. E. et al. Developmental and neurobehavioral effects of perinatal exposure to diets with different omega-6:omega-3 ratios in mice. **Nutrition,** v. 26, n. 4, p. 423-431, Apr 2010.

SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. **Appetite,** v. 52, n. 1, p. 34-38, Feb 2009.

SHANKAR, K. et al. Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,** v. 294, n. 2, p. R528-538, Feb 2008.

SHAO, S. S. et al. Dietary high-fat lard intake induces thyroid dysfunction and abnormal morphology in rats. **Acta Pharmacol Sin,** v. 35, n. 11, p. 1411-1420, Nov 2014.

SILVA, H. J. et al. Protocol of mensuration to avaliation of indicators of somatic development of wistar rats. **Int. J. Morphol.,** v. 23, n. 3, p. 227-230, 2005.

SILVA, K. O. et al. Effects of maternal low-protein diet on parameters of locomotor activity in a rat model of cerebral palsy. **Int J Dev Neurosci,** v. 52, p. 38-45, Aug 2016.

SIMONIDES, W. S.; VAN HARDEVELD, C. Thyroid hormone as a determinant of metabolic and contractile phenotype of skeletal muscle. **Thyroid,** v. 18, n. 2, p. 205-216, Feb 2008.

SMART, J. L.; DOBBING, J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain Res,** v. 28, n. 1, p. 85-95, Apr 16 1971a.

_____. Vulnerability of developing brain. VI. Relative effects of foetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain Res,** v. 33, n. 2, p. 303-314, Oct 29 1971b.

SOARES, A. K. et al. Somatic and reflex development in suckling rats: effects of mother treatment with ketogenic diet associated with lack of protein. **Nutr Neurosci,** v. 12, n. 6, p. 260-266, Dec 2009.

SOARES, J. K. et al. Acceleration of reflex maturation and physical development in suckling rats: effects of a maternal diet containing lipids from goat milk. **Nutr Neurosci,** v. 17, n. 1, p. 1-6, Jan 2014.

SWERDLOW, N. R.; GEYER, M. A. Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. **Schizophr Bull,** v. 24, n. 2, p. 285-301, 1998.

SYKES, S. E.; CHEYNE, J. A. The effects of prenatal and postnatal protein malnutrition of physical and motor development of the rat. **Dev Psychobiol,** v. 9, n. 3, p. 285-295, May 1976.

TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Developmental programming of obesity in mammals. **Exp Physiol,** v. 92, n. 2, p. 287-298, Mar 2007.

TONKISS, J. et al. Prenatal protein malnutrition and postnatal brain function. **Ann N Y Acad Sci,** v. 678, p. 215-227, Mar 15 1993.

TOZUKA, Y.; WADA, E.; WADA, K. Diet-induced obesity in female mice leads to peroxidized lipid accumulations and impairment of hippocampal neurogenesis during the early life of their offspring. **FASEB J,** v. 23, n. 6, p. 1920-1934, Jun 2009.

TREIT, D.; FUNDYTUS, M. Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. **Pharmacol Biochem Behav,** v. 31, n. 4, p. 959-962, Dec 1988.

TRUMBO, P. et al. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **J Am Diet Assoc,** v. 101, n. 3, p. 294-301, Mar 2001.

VINAY, L. et al. Perinatal development of the motor systems involved in postural control. **Neural Plast,** v. 12, n. 2-3, p. 131-139; discussion 263-172, 2005.

WALKER, C. D. Nutritional aspects modulating brain development and the responses to stress in early neonatal life. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,** v. 29, n. 8, p. 1249-1263, Dec 2005.

WELLS, J. C. Maternal capital and the metabolic ghetto: An evolutionary perspective on the transgenerational basis of health inequalities. **Am J Hum Biol,** v. 22, n. 1, p. 1-17, Jan-Feb 2010.

WEST-EBERHARD, M. J. Developmental plasticity and the origin of species differences. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 102 Suppl 1, p. 6543-6549, May 3 2005.

WESTERGA, J.; GRAMSBERGEN, A. The development of locomotion in the rat. **Brain Res Dev Brain Res,** v. 57, n. 2, p. 163-174, Dec 15 1990.

WHITE, C. L.; PURPERA, M. N.; MORRISON, C. D. Maternal obesity is necessary for programming effect of high-fat diet on offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,** v. 296, n. 5, p. R1464-1472, May 2009.

WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee., p. 1-452, 1995.

WINICK, M. Malnutrition and brain development. **J Pediatr,** v. 74, n. 5, p. 667-679, May 1969.

WOLFF, R. L. Trans-18:1 Isomers in Rat Milk Fat as Effective Biomarkers for the Determination of Individual Isomeric trans-18:1 Acids in the Dams' Diet. **Lipids,** v. 38, p. 1143-1148, 2003.

WOLFF, R. L.; PRECHT, D.; MOLKENTIN, J. Trans-18 : 1 acid content and profile in human milk lipids. Critical survey of data in connection with analytical methods. **Journal of the American Oil Chemists Society,** v. 75, n. 6, p. 661-671, Jun 1998.

WRIGHT, T.; LANGLEY-EVANS, S. C.; VOIGT, J. P. The impact of maternal cafeteria diet on anxiety-related behaviour and exploration in the offspring. **Physiol Behav,** v. 103, n. 2, p. 164-172, May 3 2011.

APÊNDICE A – ARTIGO ORIGINAL

Maternal high-fat/high-caloric diet delays reflexes ontogeny during lactation but enhances locomotor performance in late adolescence in rats

[1]Erika Vanesa CADENA-BURBANO; [2]Carolina Cadete Lucena CAVALCANTI; [3]Amanda Braz LAGO; [4]Raquel de Arruda Campos BENJAMIM; [5]Thaynan Raquel dos Prazeres OLIVEIRA; [6]Jacqueline Maria SILVA; [7]Raul MANHÃES-DE-CASTRO; [8*]Raquel DA SILVA ARAGÃO

1 Post-graduate Program of Nutrition, Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil, +55 81 2126.8463, erika.cadena28@yahoo.com.br

2 Post-graduate Program of Neuropsychiatry and Behavioural Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil, +55 81 2126.8523, carolina.cadetelc@outlook.com

3 Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil, +55 81 2126.8470, amandablago@gmail.com

4 Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil, +55 81 2126.8470, kel_arruda_@hotmail.com.br

5 Post-graduate Program of Nutrition, Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil, +55 81 2126.8463, thaynanoliveira17@gmail.com

6 Post-graduate Program of Nutrition, Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil, +55 81 2126.8463, jacqueline_018@hotmail.com

7 Post-graduate Program of Nutrition, Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil, +55 81 2126.8463, raulmanhaesdecastro@gmail.com

8 Post-graduate Program of Nutrition, Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil, +55 81 2126.8463, raquel.aragao@gmail.com, orcid.org/0000-0003-0630-7030

* Corresponding author: Raquel da Silva Aragão, Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Alto do Reservatório, s/n, Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil, CEP 55608-680. Phone: (00 55 81) 31144136 / 31144137. Fax: (00 55 81) 21268473. E-mail: raquel.aragao@gmail.com

EVCB, CCLC, TRPO and JMS are master degree students. ABL and RACB are undergraduate students. RMC is full professor at university; RSA is professor with tenure at university. They work together at research group: Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity. They are interested at the relationship of early environment and development of physiological, behavioural, molecular characteristics.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife – PE – Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 04 de setembro de 2015

Ofício nº 82/15

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: Prof.° Raul Manhaes de Castro
Departamento de Nutrição
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.024643/2015-55

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado "**Dieta hiperlipidica materna: Repercussões sobre a plasticidade fenotípica, comportamento motor e a flexibilidade metabólica muscular da prole de ratos".**

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição; Animal Rato heterogênico; Linhagem; Wistar; idade; 60 dias; peso; 200-250g; Nº total de animais a ser utilizado; 218.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SIAPE 1801584

ANEXO B – ANÁLISE DE RAÇÃO

INSTITUTO AGRONÔMICO DE PERNAMBUCO - IPA
Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária

LABORATÓRIO DE ANÁLISE DE PLANTA, RAÇÃO E ÁGUA - LAPRA
BOLETIM DE ANÁLISE DE RAÇÃO

INTERESSADO	Raquel da Silva Aragão									
PROCEDÊNCIA	UFPE									
MUNICIPIO	Recife	**QUANTIDADE DE AMOSTRA**			02			**MATERIAL**	Ração animal	
REMESSA	028	**DATA DE ENTRADA**			11/12/2015			**DATA DE SAÍDA**	17/12/2015	
Nº AMOSTRA	**REFERÊNCIA**	**MS** Matéria Seca (105 °C) %	**MM** Matéria Mineral %	**NT** Nitrogênio Total %	**PT** Proteína Total %	**FDA** Fibra Detergente Ácido %	**FDN** Fibra Detergente Neutro %	**ENN** Extrato não Nitrogenado %	**FT** Fibra Total %	**EE** Extrato Etéreo %
646	Dieta Hiperlipídica C24	95,42	2,70	3,10	19,37	11,03	18,92	51,87	8,12	17,94
647	Dieta Hiperlipídica C19	95,67	2,66	3,12	19,50	4,71	6,70	45,46	6,15	26,23

De acordo com A.O.A.C. *Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists.* 18. ed. *(2007)*
Obs.: Os resultados são expressos em matéria seca e se aplicam tão somente à amostra trazida pelo interessado.

Marilene Pimentel Ferreira
Fábio César Teixeira de Santana
ANALISTA

Dr José de Paula Oliveira
Drª Arminda Saconi Messias
RESPONSÁVEL TÉCNICO

Av. Gal. San Martin, 1371 – Bongi – 50761-000 – Recife – PE – C.P. 1022 – CNPJ 10.912.293/0001-37
Telefone: (081) 3184-7200 PABX: (81) 3184-7211 – Site: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br