



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DA VITÓRIA

JOSEILMA DE LIMA SILVA

**EFEITOS DA DIETA MATERNA SOBRE O CRESCIMENTO SOMÁTICO E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E RESPIRATÓRIOS DE RATOS AO FINAL
DA LACTAÇÃO**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
CURSO DE BACHARELADO EM ENFERMAGEM
NÚCLEO DE ENFERMAGEM

JOSEILMA DE LIMA SILVA

**EFEITOS DA DIETA MATERNA SOBRE O CRESCIMENTO SOMÁTICO E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E RESPIRATÓRIOS DE RATOS AO FINAL
DA LACTAÇÃO**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

Orientador: Dr. João Henrique da Costa Silva

Coorientadora: Ana Paula da Fonsêca Arcoverde Cabral de Mello

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
2021

Catlogação na Fonte
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB4/2018

S586e Silva, Joseilma de Lima.
Efeitos da dieta materna sobre o crescimento somático e parâmetros bioquímicos e respiratórios de ratos ao final da lactação / Joseilma de Lima Silva. - Vitória de Santo Antão, 2021.
43 folhas; tab.

Orientador: João Henrique da Costa Silva.
Coorientadora: Ana Paula da Fonsêca Arcoverde Cabral de Mello.
TCC (Bacharelado em Enfermagem) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Enfermagem, 2021.
Inclui anexos

1. Nutrição Materna - ratos. 2. Dieta hiperlipídica. 3. Desnutrição.
I. Silva, João Henrique da Costa (Orientador). II. Mello, Ana Paula da Fonsêca Arcoverde Cabral de (Coorientadora). III. Título.

613.2 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE - 110/2021

JOSEILMA DE LIMA SILVA

**EFEITOS DA DIETA MATERNA SOBRE O CRESCIMENTO SOMÁTICO E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E RESPIRATÓRIOS DE RATOS AO FINAL
DA LACTAÇÃO**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

Aprovado em: 18 / 08 / 2021.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dr. João Henrique da Costa Silva (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profaº. Dra. Viviane de Araújo Gouveia (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Edil de Albuquerque Rodrigues Filho (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. David Filipe de Santana (Examinador Externo)
Centro Universitário Facol

*Dedico este trabalho
aos meus pais, Isabel Cristina
e José Valdevino, por ter me
ensinado as verdadeiras bases
e princípios da vida, e por ter
me mostrado que o estudo é o
melhor caminho para a
realização dos meus sonhos.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, que conduziu cada passo dado por mim, que sempre esteve ao meu lado, possibilitando a realização desta etapa na minha vida. Toda a minha gratidão a Ele que permitiu que eu alcançasse esta vitória.

Agradeço aos meus pais, Isabel Cristina e José Valdevino, que me ensinaram a ser uma pessoa de bem e perseguidora dos meus sonhos. Que sempre se esforçaram para me dar uma educação de qualidade.

Aos meus irmãos, Joselita, Jobenita, Jordenan, Jordenilson e Joseline, que mesmo pouco entendendo os meus rumos acadêmicos sempre estiveram presente e me apoiaram em todas as minhas escolhas.

Ao meu orientador, professor Dr. João Henrique, por quem tenho grande admiração pela sabedoria como pesquisador. Muito obrigada pela oportunidade, confiança e apoio na realização deste trabalho. Minha imensa gratidão!

À Ana Paula, por toda confiança depositada em mim e por ter me dado a oportunidade de realizarmos este trabalho. Por tudo que me ensinou durante esses anos e por ter sido mais do que co-orientadora, mas também incentivadora. Meu sincero agradecimento.

Agradeço à todos os meus amigos, em especial ao JARLED, Jabes; Adriana; Robson; Lara; Élide e Dennyse, por me acolherem, por deixarem a rotina acadêmica mais leve e alegre, e por estarem presentes ao longo dessa caminhada até aqui.

Aos projetos anteriores, dados de desnutrição materna e grupo controle, conduzidos por Viviane Nogueira; Ially Silva; Sávio Barbosa; Ana Paula Arcoverde, e dados de hipernutrição materna e enriquecimento com ômega-3, conduzidos por Laura Mata; Aline De Bloise; Débora Alves e colaboradoras Luiza e Elionay. Obrigada!

Gratidão à todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

Insultos nutricionais relacionados à dieta materna inadequada, durante gestação e lactação, pode promover prejuízos ao desenvolvimento fetal. Investigamos crescimento somático, parâmetros bioquímicos e respiratórios, após o desmame, de proles submetidas a dieta materna pobre em proteínas, hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados ou hiperlipídica rica em ômega-3 (ω 3). Ratas *Wistar* prenhes foram alimentadas com dieta NP (18% de proteína-PTN e 6% lipídios-LIP); LP (9% de PTN e 5% de LIP); HL (23% de PTN e 32% de LIP) ou HL ω 3 (23% de PTN e 33% de LIP com ω -3) durante gestação e lactação. Analisamos variáveis somáticas, bioquímicas e respiratórias dos filhotes aos 30 dias de vida. O peso corporal foi menor em LP e HL ω 3, e maior em HL. O comprimento naso-anal foi elevado em HL. O comprimento caudal foi reduzido em LP e HL. A circunferência abdominal foi menor em LP e maior em HL. Apenas LP elevou a frequência respiratória e ventilação pulmonar. Os níveis séricos de PTN, albumina, glicose e colesterol foram reduzidos em LP e elevados em HL ω 3, enquanto o valor de triglicerídeos foi maior em LP. HL aumentou o colesterol e reduziu os triglicerídeos. Nossos achados mostram que a dieta LP reduz o crescimento somático e os níveis séricos de PTN, albumina, glicose e colesterol, e induz alterações ventilatórias. A dieta HL aumenta o comprimento corporal e o ω 3 não atenuou esse efeito em HL ω 3. As variáveis bioquímicas foram alteradas nas proles de mães com ambas dietas HL.

Palavras-chave: nutrição materna; dieta hiperlipídica; desnutrição; ácidos graxos saturados.

ABSTRACT

Nutritional insults related to inadequate maternal diet, during pregnancy and lactation, can damage fetal development. We investigated somatic growth, biochemical and respiratory parameters, after weaning, of offspring submitted to a maternal diet low in protein, high in saturated fatty acids or high in omega-3 high fat (ω 3). Pregnant Wistar rats were fed a NP diet (18% protein-PTN and 6% lipid-LIP); LP (9% PTN and 5% LIP); HL (23% PTN and 32% LIP) or HL ω 3 (23% PTN and 33% LIP with ω -3) during pregnancy and lactation. We analyzed somatic, biochemical and respiratory variables of puppies at 30 days of life. Body weight was lower in LP and HL ω 3, and higher in HL. Naso-anal length was increased in HL. The tail length was reduced in LP and HL. Waist circumference was smaller in LP and larger in HL. Only LP increased respiratory rate and pulmonary ventilation. The serum levels of PTN, albumin, glucose and cholesterol were reduced in LP and elevated in HL ω 3, while the value of triglycerides was higher in LP. HL increased cholesterol and reduced triglycerides. Our findings show that the LP diet reduces somatic growth and serum levels of PTN, albumin, glucose and cholesterol, and induces ventilatory changes. The HL diet increases body length and ω 3 did not attenuate this effect on HL ω 3. Biochemical variables were altered in offspring of mothers with both HL diets.

Keywords: maternal nutrition; high-fat diet; malnutrition; saturated fatty acids.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 ARTIGO	13
ANEXO A - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL DA UFPE.....	41
ANEXO B - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL DA UFPE.....	43

1 INTRODUÇÃO

A alimentação e nutrição são condições básicas para a promoção e proteção da saúde, e possibilitam um adequado crescimento e desenvolvimento humano, com qualidade de vida e cidadania (BRASIL, 2012). A dieta está amplamente relacionada às alterações morfológicas, metabólicas e fisiológicas, para as quais tem-se buscado origens em processos disfuncionais (BASSI *et al.*, 2012). Hiponutrição ou hipernutrição, alterações no ambiente fetal durante a gestação e a lactação, e nos demais estágios críticos do desenvolvimento, têm sido considerados como fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta (ALVES; COSTA-SILVA, 2017). Dessa forma, pode-se considerar que a nutrição materna tem repercussões sobre o desenvolvimento e a saúde dos filhos (DESAI *et al.*, 2014; PARLEE; MACDOUGALD, 2014).

Estudos epidemiológicos têm evidenciado que a desnutrição perinatal tem forte correlação entre baixo peso ao nascer, déficit de estatura na infância e risco de comorbidades na vida adulta como, diabetes tipo II, hipertensão, alterações no músculo esquelético e outros distúrbios que compõem a síndrome metabólica, além de retardos no desenvolvimento motor e cognitivo (RAVELLI *et al.*, 1976; SAWAYA; ROBERTS, 2003; SAWAYA *et al.*, 2018). Animais submetidos à restrição proteica durante a gestação e lactação apresentaram aumento de frequência respiratória aos 30 dias de vida, a qual permanece na vida adulta (BRITO ALVES *et al.*, 2014). Paralelamente à desnutrição, outro grave problema de saúde pública tem se consolidado em todo o mundo: a obesidade, onde o componente nutricional materno também parece exercer forte influência.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que, até 2025, o número de crianças obesas no mundo será em torno dos 75 milhões. Em função de sua intensidade e velocidade de evolução, o excesso de peso é considerado atualmente um dos maiores problemas de saúde pública, impactando todas as faixas etárias (BRASIL, 2012). A obesidade infantil tem sido associada à obesidade materna por meio da reprogramação metabólica fetal, embora os mecanismos precisos não sejam bem compreendidos (HEERWAGEN *et al.* 2010). A obesidade precoce se apresenta como um fator

de risco para o desenvolvimento da síndrome metabólica, problemas respiratórios, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e dislipidemias (SOUSA; OLINDA; PEDRAZA, 2016).

Dietas com excesso de ácidos graxos são uma das principais causas de obesidade, principalmente quando há presença maior de ácidos graxos saturados (AGS), que podem ser re-esterificados a ácidos graxos livres (GOLDBERG, 2006). O consumo de dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação foi associado a um maior risco para o desenvolvimento de obesidade nos descendentes, distúrbios no metabolismo glicídico e lipídico das proles (VIDAL-SANTOS *et al.*, 2017). Os primeiros mil dias, período compreendido desde a concepção até os dois primeiros anos de vida, exercem grande influência sobre o risco de desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta (KATTULA *et al.*, 2014).

É importante enfatizar que os efeitos do consumo dos ácidos graxos parecem variar de acordo com o tipo, comprimento da cadeia e nível de saturação: pesquisas mostram que em humanos, os ácidos graxos ω -3 promovem efeitos anti-inflamatórios, através da supressão do fator nuclear kappa B e ativação do receptor ativado do proliferador de peroxissoma γ (CALDER, 2015), e atuam no controle das dislipidemias (CASA NOVA & MEDEIROS, 2011; MOZAFFARIAN & WU, 2011). O consumo de ω -3 durante o período perinatal foi associada à redução da adiposidade, melhora a sensibilidade à insulina (KOROTKOVA *et al.*, 2002; SARDINHA *et al.*, 2013), e redução do acúmulo de triglicerídeos hepáticos na prole de ratos (VALENZUELA *et al.*, 2012). Durante a gestação e lactação, orientações nutricionais apontam para um aumento nas necessidades de ácidos graxos essenciais, ω -6 e ω -3, e seus derivados (KOLETZKO *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007).

Está pesquisa evidencia os efeitos da exposição de diferentes dietas maternas durante gestação e lactação em proles de ratas, no intuito de compreender a magnitude de insultos nutricionais maternos sobre a infância precoce dos filhotes. Assim, hipotetizamos que, durante gestação e lactação, a desnutrição proteica está associada a prejuízos no crescimento somático, distúrbios metabólicos e modificações na função respiratória da prole; enquanto

a hipernutrição lipídica está relacionada ao crescimento somático acelerado, prejuízos no metabolismo de lipídeos e glicose, bem como disfunções respiratórias na prole; o enriquecimento da dieta com ω -3 é capaz de atenuar os efeitos deletérios causados pela dieta hiperlipídica rica em AGS, ao final da lactação. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de desbalanços na dieta materna, seja pobre em proteínas, hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados ou hiperlipídica rica em ômega-3, sobre o crescimento somático, os parâmetros bioquímicos e respiratórios ao final da lactação das proles de ratas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos de desbalanços na dieta materna, seja pobre em proteínas, hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados ou hiperlipídica rica em ômega-3, sobre o crescimento somático, os parâmetros bioquímicos e respiratórios ao final da lactação das proles de ratas.

2.2 Objetivos Específicos

Nas proles de ratas alimentadas com dieta hipoproteica, hiperlipídica rica em AGS ou hiperlipídica suplementada com Ômega-3 durante a gestação e lactação:

- Quantificar o peso corporal, o ganho ponderal e crescimento somático;
- Avaliar o perfil bioquímico sérico de proteínas totais, albumina, glicose, colesterol e triglicerídeos;
- Mensurar os parâmetros ventilatórios.

3 ARTIGO

O PRESENTE TRABALHO ESTÁ APRESENTADO NO FORMATO DE ARTIGO REQUERIDO PELA REVISTA REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO EXERCÍCIO E NUTRIÇÃO, CUJAS NOR

MAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS SE ENCONTRAM EM ANEXO.

Efeitos da dieta materna sobre o crescimento somático e parâmetros bioquímicos e respiratórios de ratos ao final da lactação

Silva, Joseilma L¹; Arcoverde-Mello, Ana PFC¹; Alves, Debora S¹; Bloise, Aline MNLG¹; Silva, Laura ML¹; Nogueira, Viviane O¹; Costa-Silva, João H^{1*}

¹Laboratório de Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, Departamento de Educação Física e Ciências do Esporte, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Vitória de Santo Antão – PE, 55608-680, Brazil.

***Endereço para correspondência:**

João Henrique Costa-Silva

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

Rua Alta do Reservatório, S/N, Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE.

CEP: 55608-680

Phone/fax: 55 81 31144101

Email: joao.hcsilva@ufpe.br

Agradecimentos: Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação – Universidade Federal de Pernambuco (PROPESQI-UFPE) pelo apoio financeiro no presente estudo.

Título resumido: Repercussões da dieta materna na prole

Conflito de interesse: Nenhum.

RESUMO

Insultos nutricionais relacionados à dieta materna inadequada, durante gestação e lactação, pode promover prejuízos ao desenvolvimento fetal. Investigamos crescimento somático, parâmetros bioquímicos e respiratórios, após o desmame, de proles submetidas a dieta materna pobre em proteínas, hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados ou hiperlipídica rica em ômega-3 (ω 3). Ratas *Wistar* prenhes foram alimentadas com dieta NP (18% de proteína-PTN e 6% lipídios-LIP); LP (9% de PTN e 5% de LIP); HL (23% de PTN e 32% de LIP) ou HL ω 3 (23% de PTN e 33% de LIP com ω -3) durante gestação e lactação. Analisamos variáveis somáticas, bioquímicas e respiratórias dos filhotes aos 30 dias de vida. O peso corporal foi menor em LP e HL ω 3, e maior em HL. O comprimento naso-anal foi elevado em HL. O comprimento caudal foi reduzido em LP e HL. A circunferência abdominal foi menor em LP e maior em HL. Apenas LP elevou a frequência respiratória e ventilação pulmonar. Os níveis séricos de PTN, albumina, glicose e colesterol foram reduzidos em LP e elevados em HL ω 3, enquanto o valor de triglicerídeos foi maior em LP. HL aumentou o colesterol e reduziu os triglicerídeos. Nossos achados mostraram que a dieta LP reduz o crescimento somático e os níveis séricos de PTN, albumina, glicose e colesterol, e induz alterações ventilatórias. A dieta HL aumenta o comprimento corporal e o ω 3 não atenuou esse efeito em HL ω 3. As variáveis bioquímicas foram alteradas nas proles de mães com ambas dietas HL.

Palavras-chave: Nutrição Materna. Dieta Hiperlipídica. Desnutrição. Ácidos Graxos Saturados.

ABSTRACT

Nutritional insults related to inadequate maternal diet, during pregnancy and lactation, can damage fetal development. We investigated somatic growth, biochemical and respiratory parameters, after weaning, of offspring submitted to a maternal diet low in protein, high in saturated fatty acids or high in omega-3 high fat (ω 3). Pregnant Wistar rats were fed a NP diet (18% protein-PTN and 6% lipid-LIP); LP (9% PTN and 5% LIP); HL (23% PTN and 32% LIP) or HL ω 3 (23% PTN and 33% LIP with ω -3) during pregnancy and lactation. We analyzed somatic, biochemical and respiratory variables of puppies at 30 days of life. Body weight was lower in LP and HL ω 3, and higher in HL. Naso-anal length was increased in HL. The tail length was reduced in LP and HL. Waist circumference was smaller in LP and larger in HL. Only LP increased respiratory rate and pulmonary ventilation. The serum levels of PTN, albumin, glucose and cholesterol were reduced in LP and elevated in HL ω 3, while the value of triglycerides was higher in LP. HL increased cholesterol and reduced triglycerides. Our findings show that the LP diet reduces somatic growth and serum levels of PTN, albumin, glucose and cholesterol, and induces ventilatory changes. The HL diet increases body length and ω 3 did not attenuate this effect on HL ω 3. Biochemical variables were altered in offspring of mothers with both HL diets.

Keywords: Maternal Nutrition. High-fat diet. Malnutrition. Saturated Fatty Acids.

1 Introdução

A alimentação e nutrição são condições básicas para a promoção e proteção da saúde, e possibilitam um adequado crescimento e desenvolvimento humano, com qualidade de vida e cidadania (BRASIL, 2012). A dieta está amplamente relacionada às alterações morfológicas, metabólicas e fisiológicas, para as quais tem-se buscado origens em processos disfuncionais (BASSI *et al.*, 2012). Hiponutrição ou hipernutrição, alterações no ambiente fetal durante a gestação e a lactação, e nos demais estágios críticos do desenvolvimento, têm sido considerados como fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta (ALVES; COSTA-SILVA, 2017). Dessa forma, pode-se considerar que a nutrição materna tem repercussões sobre o desenvolvimento e a saúde dos filhos (DESAI *et al.*, 2014; PARLEE; MACDOUGALD, 2014).

Estudos epidemiológicos têm evidenciado que a desnutrição perinatal tem forte correlação entre baixo peso ao nascer, déficit de estatura na infância e risco de comorbidades na vida adulta como, diabetes tipo II, hipertensão, alterações no músculo esquelético e outros distúrbios que compõem a síndrome metabólica, além de retardos no desenvolvimento motor e cognitivo (RAVELLI *et al.*, 1976; SAWAYA; ROBERTS, 2003; SAWAYA *et al.*, 2018). Animais submetidos à restrição proteica durante a gestação e lactação apresentaram aumento de frequência respiratória aos 30 dias de vida, a qual permanece na vida adulta (BRITO ALVES *et al.*, 2014). Paralelamente à desnutrição, outro grave problema de saúde pública tem se consolidado em todo o mundo: a obesidade, onde o componente nutricional materno também parece exercer forte influência.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que, até 2025, o número de crianças obesas no mundo será em torno dos 75 milhões. Em função de sua intensidade e velocidade de evolução, o excesso de peso é considerado atualmente um dos maiores problemas de saúde pública, impactando todas as faixas etárias (BRASIL, 2012). A obesidade infantil tem sido associada à obesidade materna por meio da reprogramação metabólica fetal, embora os mecanismos precisos não sejam bem compreendidos (HEERWAGEN *et al.* 2010). A obesidade precoce se apresenta como um fator

de risco para o desenvolvimento da síndrome metabólica, problemas respiratórios, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e dislipidemias (SOUSA; OLINDA; PEDRAZA, 2016).

Dietas com excesso de ácidos graxos são uma das principais causas de obesidade, principalmente quando há presença maior de ácidos graxos saturados (AGS), que podem ser re-esterificados a ácidos graxos livres (GOLDBERG, 2006). O consumo de dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação foi associado a um maior risco para o desenvolvimento de obesidade nos descendentes, distúrbios no metabolismo glicídico e lipídico das proles (VIDAL-SANTOS *et al.*, 2017). Os primeiros mil dias, período compreendido desde a concepção até os dois primeiros anos de vida, exercem grande influência sobre o risco de desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta (KATTULA *et al.*, 2014).

É importante enfatizar que os efeitos do consumo dos ácidos graxos parecem variar de acordo com o tipo, comprimento da cadeia e nível de saturação: pesquisas mostram que em humanos, os ácidos graxos ω -3 promovem efeitos anti-inflamatórios, através da supressão do fator nuclear kappa B e ativação do receptor ativado do proliferador de peroxissoma γ (CALDER, 2015), e atuam no controle das dislipidemias (CASA NOVA & MEDEIROS, 2011; MOZAFFARIAN & WU, 2011). O consumo de ω -3 durante o período perinatal foi associada à redução da adiposidade, melhora a sensibilidade à insulina (KOROTKOVA *et al.*, 2002; SARDINHA *et al.*, 2013), e redução do acúmulo de triglicerídeos hepáticos na prole de ratos (VALENZUELA *et al.*, 2012). Durante a gestação e lactação, orientações nutricionais apontam para um aumento nas necessidades de ácidos graxos essenciais, ω -6 e ω -3, e seus derivados (KOLETZKO *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007).

Está pesquisa evidencia os efeitos da exposição de diferentes dietas maternas durante gestação e lactação em proles de ratas, no intuito de compreender a magnitude de insultos nutricionais maternos sobre a infância precoce dos filhotes. Assim, hipotetizamos que, durante gestação e lactação, a desnutrição proteica está associada a prejuízos no crescimento somático, distúrbios metabólicos e modificações na função respiratória da prole; enquanto

a hipernutrição lipídica está relacionada ao crescimento somático acelerado, prejuízos no metabolismo de lipídeos e glicose, bem como disfunções respiratórias na prole; o enriquecimento da dieta com ω -3 é capaz de atenuar os efeitos deletérios causados pela dieta hiperlipídica rica em AGS, ao final da lactação. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de desbalanços na dieta materna, seja pobre em proteínas, hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados ou hiperlipídica rica em ômega-3, sobre o crescimento somático, os parâmetros bioquímicos e respiratórios ao final da lactação das proles de ratas.

2 Metodologia

2.1 Aspectos éticos

Este trabalho utilizou animais cujo os protocolos de experimentação foram aprovados pelo Comitê de Ética para Uso Animal (protocolo 23076.049500/2016-37 e 23076.046459/2018-17) da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, e seguiu as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

2.2 Animais e manipulação nutricional

Foram acompanhados 48 ratos, proles de 18 ratas albinas nulíparas da linhagem Wistar, com 90 dias de vida e peso corporal compreendido entre 220 e 260g. As ratas foram acasaladas com machos saudáveis, na proporção 3:1. A prenhez foi identificada após a observação da presença de espermatozoides no esfregaço vaginal no dia imediato após o acasalamento as 06 horas da manhã. A partir da confirmação da prenhez e até o final da lactação (21 dias de vida), as ratas foram colocadas em gaiolas individuais e agrupadas aleatoriamente em suas respectivas dietas. Foram utilizados quatro tipos de dietas: NP: normoproteica e normolipídica (18,6% de proteína caseína; 6,1% de lipídios e 68,6% de carboidratos, 3,7kcal/g), baseada na AIN-93G (26); LP: baixa em proteínas e normolipídica (8,7% de proteína caseína, 5,1% de lipídios e 75% de carboidratos, 3,6kcal/g) baseada na AIN-93 (REEVES, NIELSEN, FAHEY, 1993); HL: normal em proteínas e rica em ácidos graxos saturados

(20% de proteína caseína, 33% de lipídios e 47% de carboidratos, 4,5kcal/g), adaptada de Ferro-Cavalcante (2013); e HL- ω 3: normal em proteínas e enriquecida em ácidos graxos poli-insaturados Ômega-3, originados de linhaça dourada (20% de proteína caseína, 33% de lipídios e 47% de carboidratos, 4,5kcal/g), baseada em Silva (2019) (Tabela 1).

No primeiro dia após o nascimento, a prole foi reduzida a oito filhotes por rata matriz, mantendo preferencialmente filhotes machos e as fêmeas necessárias para complementar o número de oito, o sexo dos filhotes foi distinguido a partir da observação da distância anogenital. Após o desmame, aos 21 dias, os filhotes receberam dieta padrão para biotério (Presence®, Grupo Neovia, São Paulo, Brasil), até 30 dias de vida.

2.3 Avaliação do ganho ponderal e crescimento somático

A massa corporal dos animais foi acompanhada diariamente. O ganho ponderal foi calculado aos 21 dias (referente ao ganho de peso do nascimento até essa data) e até os 30 dias de vida. A circunferência abdominal, comprimento caudal e comprimento naso-anal dos filhotes foram mensurados semanalmente, como previamente descrito por Bayol (2004) e Barker (2008), do nascimento até o 30º dia de vida.

2.4 Análises bioquímicas

A coleta de sangue foi realizada a partir da perfuração no plexo orbital dos animais, através da utilização de um capilar de 1,0/1,5 mm, anestesiados por ketamina (80 mg/kg i.p.) e xilazina (10 mg/kg i.p). Foram coletadas aproximadamente 0,5 mL de sangue que eram transferidas do capilar diretamente para um tubo estéril (Eppendorf) de 2 mL sem anti-coagulante. Em seguida, os tubos foram colocados em uma centrífuga (Vision:VS-15000 CFN II) por 10 minutos em uma velocidade de 3500 rpm para obtenção do soro. O sobrenadante foi coletado com auxílio de pipeta e transferido para um tubo Eppendorf, armazenado no freezer a uma temperatura -80°C para posteriores análises do conteúdo sérico de albuminas, proteínas totais, colesterol total, triglicerídeos e glicose, utilizando-se seus respectivos kits

comerciais em analisador bioquímico digital, como descrito por Arcoverde-Mello (2018). Todas as análises bioquímicas foram realizadas aos 21, e 30 dias de vida.

2.5 Parâmetros ventilatórios

As medidas ventilatórias foram obtidas por pletismografia de corpo inteiro em sistema fechado. Durante a realização de cada medida de ventilação, o fluxo de ar foi interrompido e a câmara do animal permaneceu totalmente vedada por curtos períodos de tempo (~2 min). As oscilações causadas pela ventilação do animal foram captadas por um dispositivo conectado à câmara que contém o transdutor diferencial de pressão e o amplificador de sinais (ML141 spirometer, PowerLab, ADInstruments) e o sistema de aquisição de dados (LabChart™ Pro, PowerLab, ADInstruments). Foram mensuradas três variáveis respiratórias: a frequência respiratória (FR), o volume corrente (VT) e a ventilação pulmonar (VE), como descrito por Arcoverde-Mello (2018), adaptado de Malan (1973). Os parâmetros foram avaliados aos 1, 7, 14, 21 e 30 dias de vida das proles.

2.6 Análise de dados

Os resultados foram expressos como média $\pm$ o erro padrão da média (e.p.m). A normalidade dos dados foi avaliada por Shapiro-Wilk. Para comparação entre dados paramétricos, foi utilizado o One way ANOVA com pós-teste de Newman-Keulls e para os não paramétricos, foi utilizado Kruskal-Wallis com pós-teste de Bonferroni, com nível de significância de $p < 0,05$.

3 Resultados

3.1 Avaliação dos parâmetros somáticos

Na avaliação dos parâmetros somáticos (tabela 2) podemos acompanhar o peso corporal das proles de ratos durante a fase de lactação, observamos que ao nascimento (dia 1) a desnutrição materna promoveu

redução no peso corporal dos animais LP, a hipernutrição lipídica teve influência sobre o aumento dessa variável no grupo HL, e esses resultados mantêm-se até os 30 dias de vida, enquanto o grupo HL ω 3 apresentou menor peso corporal apenas no 1° e no 7° dia de vida, aumentando gradualmente nas outras idades analisadas, quando comparado ao grupo NP ($p<0,0001$).

A avaliação do ganho ponderal pode ser observada na figura 1(A) que durante o período desde o nascimento até aos 21 dias, os animais desnutridos apresentaram menor ganho ponderal comparado aos demais grupos ($p<0,0001$), e esse resultado se mantém no período pós-desmame, que corresponde dos 21 dias até aos 31 dias de vida ($p<0,0001$), como pode ser observado na figura 1(B), e na figura 1(C), que corresponde ao período desde o nascimento até o final da lactação ($p<0,0001$).

Nas idades 1, 7, 14, 21 e 30 dias de vida foi avaliado na prole: o comprimento caudal, a circunferência abdominal e o comprimento naso-anal (tabela 2). No 1° dia de vida as proles não apresentaram diferença significativa no tamanho do comprimento caudal entre os grupos ($p=0,0424$). Durante o período de lactação, a prole de ratos provenientes de mães submetidas à hipernutrição proteica perinatal apresentaram menor comprimento caudal no 7° dia de vida quando comparado ao NP ($p<0,0001$). Já no 14° e 21° ($p<0,0001$) dias de vida, os animais desnutridos apresentaram menor comprimento caudal quando comparado aos grupos NP, HL e HL ω 3. Após o desmame, o grupo LP manteve os valores inferiores em relação ao NP e HL ω 3, contudo os animais provenientes de mães que receberam dieta hiperlipídica suplementada com ômega 3 tiveram um aumento no comprimento caudal se comparado as proles HL ($p<0,0001$).

Na avaliação da circunferência abdominal (tabela 2) durante a lactação, observamos que ao nascer os animais LP e HL apresentaram maior diâmetro do que o grupo NP ($p=0,0031$). Entretanto, o grupo oriundo de mães desnutridas demonstraram uma redução nessa variável no 7°, no 14° e no 21° ($p<0,0001$) dias de vida, quando comparado a todos os demais grupos. Considerando o período após o desmame, os animais LP mantêm-se com os valores reduzidos, enquanto as proles HL apresentaram maior circunferência abdominal se comparado ao NP e ao HL ω 3 ($p<0,0001$).

Em relação a avaliação do comprimento naso-anal (tabela 2) durante a lactação, as proles cujo as mães receberam dieta hiperlipídica enriquecida com AGS apresentaram-se maiores em relação aos grupos NP, LP e HL ω 3, nas duas primeiras idades analisadas, ao nascer ($p=0,0010$) e no 7° ($p<0,0001$) dia de vida. Aos 14 dias, não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,1171$), entretanto, aos 21 dias ($p<0,0001$) ambos os grupos hiperlipídico apresentaram maior comprimento naso-anal comparado aos animais desnutridos, que mostraram-se menor apenas nessa idade quando comparado aos animais HL, HL ω 3, e ao grupo NP. Nas análise pós-desmame, o grupo HL mantém-se com os valores aumentados aos 30 dias ($p<0,0001$) quando comparado a todos os grupos.

3.2 Avaliação dos Parâmetros bioquímicos

Na análise dos parâmetros bioquímicos, podemos acompanhar na tabela 3 que aos 21 dias de vida a desnutrição materna promoveu redução dos níveis séricos de proteínas totais ($p=0,0057$), albumina ($p<0,0001$) e triglicerídeos ($p=0,0025$). Os animais do grupo HL apresentaram aumento dos níveis séricos de albumina ($p<0,0001$) e colesterol ($p=0,0111$), enquanto os animais HL ω 3 tiveram aumento no conteúdo de albumina ($p<0,0001$). Aos 30 dias, os animais desnutridos apresentaram redução nos níveis séricos de todos os parâmetros bioquímicos, exceto triglicerídeos ($p=0,0008$), que mostrou-se aumentado. O grupo HL aumentou colesterol ($p<0,0001$) e reduziu os triglicerídeos, enquanto o grupo HL ω 3 aumentou todos os parâmetros, exceto triglicerídeos.

3.3 Avaliação dos Parâmetros ventilatórios

As variáveis ventilatórias foram analisadas na prole no 1°, 7°, 14°, 21° e 30° dias de vida quanto à frequência respiratória, obtendo os valores de volume corrente e ventilação pulmonar. Ao analisarmos a frequência respiratória (figura 2A) durante o período de lactação, observamos que a prole de ratos provenientes de mães submetidas à desnutrição proteica perinatal exibem valores basais reduzidos no 1° dia de vida ($p=0,0066$) quando comparado com

os animais NP e HL. No 7° dia ($p=0,0113$) o grupo HL apresentou um aumento dos valores se comparado ao HL ω 3. Já no 14° dia ($p=0,0005$) observou-se uma redução dos valores de frequência respiratória induzida pela dieta HL ω 3 na prole quando comparado aos animais NP e LP. No entanto, é possível perceber que a desnutrição promoveu uma elevação desse parâmetro a partir do 21° dia ($p<0,0001$), enquanto as proles de ambos os grupos hiperlipídico mostraram-se reduzidos em relação ao NP. No período pós-desmame, os animais desnutridos mantiveram os valores aumentados aos 30 dias de vida quando comparado a todos os grupos ($p<0,0001$).

Ao analisarmos o volume corrente (figura 2B) durante a lactação, observamos que o grupo LP apresenta valores reduzidos ao nascer comparado ao NP ($p=0,0259$), que são aumentados no 14° ($p<0,0001$) e no 21° ($p=0,0466$) dias de vida. Já nas análises realizadas no 7° ($p=0,6203$) e aos 30° dias de vida não foi observada diferença significativa entre os grupos ($p=0,4514$).

Em relação a ventilação pulmonar (figura 2C) durante a lactação, constatamos que não houve diferença significativa nas duas primeiras idades analisadas, no 1° ($p=0,7960$) e no 7° ($p=0,3946$) dias de vida. Aos 14 dias os valores apresentaram-se reduzidos em ambos os grupos hiperlipídico, HL e HL ω 3, em relação ao NP e LP ($p<0,0001$). Contudo, aos 21 dias apenas os animais desnutridos demonstraram os valores de ventilação pulmonar elevado ($p<0,0001$) e esse resultado se mantém após o desmame até os 30 dias de vida ($p=0,0274$) apenas quando comparado ao grupo HL ω 3.

4 Discussão

No presente estudo, investigamos os efeitos de diferentes dietas maternas desbalanceadas, pobre em proteínas, hiperlipídica rica em AGS ou hiperlipídica rica em ômega-3, sobre o crescimento somático, os parâmetros bioquímicos e respiratórios ao final da lactação das proles de ratas. As hipóteses elaboradas indicam que a desnutrição proteica, durante gestação e lactação, está associada à prejuízos no crescimento somático, distúrbios metabólicos e modificações na função respiratória da prole; enquanto a hipernutrição lipídica está relacionada ao crescimento somático acelerado, prejuízos no metabolismo de lipídeos e disfunções respiratórias na prole; e que

o enriquecimento da dieta com ômega-3 é capaz de atenuar os efeitos deletérios causados pela dieta hiperlipídica rica em AGS ao final da lactação.

Os principais achados desta pesquisa demonstram que filhotes expostos a uma dieta materna pobre em proteína apresentaram disfunções no crescimento somático, na função respiratória e alterações metabólicas. A dieta hiperlipídica rica em AGS influenciou as variáveis somáticas, enquanto o enriquecimento com ômega-3 atenuou a circunferência abdominal e comprimento naso-anal. O ω 3 aumentou os níveis de colesterol e reduziu os de triglicerídeos nas proles de mães com ambas dietas hiperlipídicas.

Nossos achados referentes às variáveis somáticas, indicam que a desnutrição materna reduziu a massa corporal dos filhotes em todas as idades analisadas comparado a NP. Este achado demonstrou que a dieta administrada não ofertou os nutrientes necessários para um crescimento adequado, confirmando os dados de Barbosa (2019) que usou em seu estudo ratos Wistar machos de mães que receberam dieta com baixo teor de proteína (9% de proteína) durante o período perinatal (BARBOSA *et al.*, 2019).

Em contrapartida, a hipernutrição materna, de ambos os grupos hiperlipídicos, aumentou a massa corporal dos animais na maioria das idades analisadas, como já era esperado em HL, esses achados sugerem que o consumo materno de ômega-3 durante gestação e lactação não foi eficaz na redução do peso corporal das proles de mães alimentadas com HL. Isso pode ser devido a elevada quantidade de AGS presentes nas dietas HL (MENNITTI *et al.*, 2015). A influência da dieta materna na composição do leite também pode justificar esses resultados (LIMA *et al.*, 2015). O estudo de Purcell *et al.* (2011) demonstrou que ratos alimentados com dieta hiperlipídica durante gestação e lactação consomem mais leite materno. Dessa forma, uma maior ingestão de leite pode ter contribuído no aumento do tamanho do corpo da prole (PURCELL *et al.*, 2011)

Após o desmame, os animais submetidos a desnutrição materna apresentaram menor circunferência abdominal, enquanto HL apresentou circunferência abdominal maior do que o NP. Foi demonstrado que o consumo materno de dieta HL induz ao aumento da gordura visceral na prole (VOLPATO *et al.*, 2012). Em todas as idades analisadas, o HLw3 apresentou circunferência abdominal semelhante aos animais NP. A suplementação da dieta hiperlipídica

materna durante os estágios críticos do desenvolvimento reduz o tecido adiposo visceral e subcutâneo, o que após o desmame tem sido considerado como risco de surgimento de obesidade nos filhotes (BAGLEY *et al.*, 2013).

Em relação às variáveis bioquímicas ao final da lactação, os animais submetidos a desnutrição materna apresentaram menores níveis plasmáticos de proteínas totais e albumina. Este achado era esperado, como resposta à restrição proteica durante gestação e lactação, o que ocasiona em um menor conteúdo sérico de proteínas totais e albumina circulante para o tecido, preservando-as em órgãos vitais como o fígado, para garantia da homeostase hepática (ARCOVERDE-MELLO, 2018).

A desnutrição também teve influência no perfil lipídico, reduziu os níveis séricos de colesterol e aumentou os níveis séricos de triglicerídeos. Animais submetidos a desnutrição materna perinatal podem apresentar um aumento dos triglicerídeos hepáticos, o que pode estar associado à alterações na regulação transcricional e epigenética do gene das lipases lipoprotéicas, essas modificações promovem uma maior fosforilação das perilipinas no tecido adiposo e o aumento da reesterificação dos ácidos graxos a triacilgliceróis (ZHU *et al.*, 2016) que pode ser utilizado para geração de energia por via oxidativa e evitar o catabolismo de proteínas (FERREIRA *et al.*, 2016).

Em concordância com outros estudos que usaram a dieta hiperlipídica materna como modelo, nosso estudo mostrou que a dieta rica em AGS promoveu o aumento do colesterol e reduziu os triglicerídeos. A quantidade de AGS presentes na dieta dos ratos pode ter contribuído para esses achados. Desse modo, a composição dos ácidos graxos do leite pode ter favorecido o aumento dos níveis de colesterol na prole (LIMA *et al.*, 2015; GUIMARÃES *et al.*, 2017). Por outro lado, o enriquecimento da dieta com ômega-3 não atenuou os efeitos deletérios da dieta hiperlipídica, que aumentou os níveis séricos de proteínas totais, albumina, glicose e colesterol. A dislipidemia materna pode comprometer a funcionalidade placentária e prejudicar o suprimento feto-placentário por meio de marcadores pró-inflamatórios, estresse oxidativo elevado, e alteração de lipídios e glicose (GUIMARÃES *et al.*, 2017).

Em humanos, estudos identificaram que a quantidade de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (relação ômega6: ômega3) presentes na dieta materna pode estar relacionado com a variação do perfil de ácidos graxos do

leite (DRITSAKOU *et al.*, 2017). O aumento de colesterol e triglicerídeos são fatores de risco para disfunção endotelial (LUNDMAN *et al.*, 2001) e aterosclerose (KANNEL *et al.*, 1971). Nosso estudo mostrou que a prole HL ω 3 não alterou os triglicerídeos comparado ao NP. Vários estudos apresentaram que o ω 3 é capaz de melhorar a função vascular e prevenir parte do processo aterosclerótico. Os ácidos graxos ω 3 podem auxiliar na redução da inflamação sistêmica crônica, que está presente na hipercolesterolemia, por estimular a resolução da inflamação e por reduzir os estímulos pró-inflamatórios (MOUTON *et al.*, 2020).

Na avaliação dos parâmetros ventilatórios, nossos dados tem evidenciado que apenas os animais cujas as mães foram submetidas à desnutrição proteica perinatal apresentaram aumento da frequência respiratória (FR) e da ventilação pulmonar (VE) ao final da infância. Os estudos de Alves *et al.* (2013) e Nogueira (2015) identificaram aumento da FR e da quimiossensibilidade ao CO₂ em animais desnutridos, o que pode estar relacionado a uma hiperresponsividade e alterações na integridade dos quimiorreceptores periféricos à alterações nas concentrações de oxigênio/gás carbônico (ALVES *et al.*, 2013; NOGUEIRA, 2015).

A literatura tem apontado que os centros de controle respiratório apresentam-se sensibilizadas em animais desnutridos, aos 30 dias de vida (período que corresponde a maturação do sistema respiratório) (NOGUEIRA, 2015). Assim, a desnutrição proteica perinatal é capaz de alterar a maturação do sistema respiratório, promovendo a elevação da FR. Além disso, tem sido apontado que estas alterações ventilatórias na prole induzem a um quadro de hiperatividade do sistema nervoso simpático (BRITO-ALVES *et al.*, 2014; NOGUEIRA *et al.*, 2014). Estes achados corroboram com que já está escrito na literatura, demonstrando que os insultos nutricionais durante gestação e lactação podem ter um impacto no desenvolvimento do fenótipo respiratório, como causar alterações na ventilação basal e resposta ventilatória a hipóxica e hipercapnica (NOGUEIRA, 2015).

Este estudo apresenta algumas limitações importantes no que concerne a não avaliamos o perfil lipídico sérico e do leite materno; não avaliamos as frações do colesterol dos filhotes, que poderia oferecer informações importantes a respeito da influência do leite materno no perfil lipídico; e não

avaliamos a influência da atuação simpática e parassimpática sobre a frequência respiratória, o que poderia fornecer informações importantes a respeito dos efeitos das alterações no consumo de carboidratos e lipídios pelas mães, durante o período de desenvolvimento intrauterino.

Este estudo contribuiu para esclarecer a importância do balanceamento de macronutrientes, como carboidratos, proteínas e lipídios na dieta materna durante os períodos críticos do desenvolvimento, e que o ômega-3 pode ser uma estratégia de prevenção primária para doenças cardiometabólicas. Compreender os efeitos de desbalanços nutricionais maternos sobre o desenvolvimento e a saúde dos descendentes precisa ser uma ação prioritária, principalmente, em países em desenvolvimento como o Brasil, onde coabitam a miséria, a escassez de alimentos e a obesidade.

5 Considerações finais

Nossos achados mostraram que ao final da lactação, a dieta pobre em proteína reduz o crescimento somático e os níveis séricos de proteínas totais, albumina, glicose e colesterol, enquanto aumenta os triglicerídeos, e induz alterações ventilatórias na frequência respiratória e ventilação pulmonar. A dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados aumenta o comprimento corporal, enquanto o enriquecimento da dieta com ômega-3 atenuou circunferência abdominal e comprimento naso-anal. As variáveis bioquímicas foram alteradas nas proles de mães com ambas dietas hiperlipídicas.

Referências

Alves JLB, Toscano AE, Costa-Silva JH, Vidal H, Leandro CG, Pirola L. Transcriptional response of skeletal muscle to a low protein perinatal diet in rat offspring at different ages: The role of key enzymes of glucose-fatty acid oxidation. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, New York. 2017; 41: 117-123.

Alves JLdB, Nogueira VO, Oliveira GB, Silva GSF, Wanderley AG, Leandro CG, et al. Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O₂/CO₂ chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. *British Journal Of Nutrition*. 2013; 111: 606-615.

Arcoverde-Mello APC. Efeitos agudos da dieta hiperlipídica sobre variáveis murinométricas, bioquímicas e respiratórias de ratos que sofreram desnutrição proteica perinatal [Trabalho de conclusão de Curso]. Universidade Federal de Pernambuco; 2018.

Bassi M, Giusti H, Leite CM, Anselmo-Franci JA, Carmo JM, Silva AA, et al. Central leptin replacement enhances chemorespiratory responses in leptin-deficient mice independent of changes in body weight. *Pflugers Archiv*. 2018; 464: 145-53.

Bayol S, Jones D, Goldspink G, Stickland NC. The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. *British Journal Of Nutrition*, Wallingford. 2004; 91: 331-339.

Baker DH. Animal Models in Nutrition Research. *The Journal Of Nutrition*, Rockville. 2008; 138: 391-396.

Barbosa SdS, Mello APdFAC, Nogueira VdO, Silva IF, Melo PED, Santos CR, et al. Consumption of a high-fat diet does not potentiate the deleterious effects on lipid and protein levels and body development in rats subjected to maternal protein restriction. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* on March. 2019.

Bagley HN, Wang Y, Campbell MS, Yu X, Lane RH, Joss-Moore LA. Maternal docosahexaenoic acid increases adiponectin and normalizes IUGR-induced changes in rat adipose deposition. *J Obes.* 2013;2013:312153. Epub 2013/03/28.

Brasil. Ministério da Saúde. Política Nacional de Alimentação e Nutrição – PNAN. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. [acesso em 10 ago. 2019]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_alimentacao_nutricao.pdf

Brito-Alves JL, Nogueira VO, Oliveira GB, Silva GS, Wanderley AG, Leandro CG, *et al.* Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O₂/CO₂ chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. *The British journal of nutrition.* 2014; 111: 606-15.

Cavalcante TCF, Silva JML, Silva AAM, Muniz GS, Luz Neto LM, Souza SL, *et al.* Effects of a Westernized Diet on the Reflexes and Physical Maturation of Male Rat Offspring During the Perinatal Period. *Lipids.* 2013; 48 (11) : 1157-1168.

Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids.* 2015;1851(4):469-84.

Casanova M, Medeiros F. Recentes evidências sobre os ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 na doença cardiovascular. *Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto.* 2011; 1: 74-80.

Desai M, Jellyman JK, Han G, Beall M, Lane RH, Ross, MG. Rat maternal obesity and high fat diet program offspring metabolic syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2014; 211: 1-28.

Dritsakou K, Liosis G, Valsami G, Polychronopoulos E, Skouroliahou M. The impact of maternal- and neonatal-associated factors on human milk's macronutrients and energy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017; 30(11):1302-1308.

Ferreira DJS, Pedroza AAdS, Braz GRF, Silva-Filho RC, Lima TA, Fernandes MP, et al. Mitochondrial bioenergetics and oxidative status disruption in brainstem of weaned rats: Immediate response to maternal protein restriction. *Brain Res.* 2016; 1642: 553-561.

Goldberg IJ, Ginsberg HN. Ins and outs modulating hepatic triglyceride and development of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2006; 130 (4): 1343-6.

Guimarães KSL, Araújo EVdA, Aquino JS, Gadelha DA, Balarini CM, Costa-Silva JH, et al. Effect of maternal dyslipidaemia on the cardiorespiratory physiology and biochemical parameters in male rat offspring. *Br J Nutr.* 2017; 118(11): 930-941.

Heerwagen MJR, Miller MR, Barbour LA, Friedman JE. Maternal obesity and fetal metabolic programming: A fertile epigenetic soil. *Am. J. Physiol. Regul Integr Comp Physiol.* 2010; 299 (3): R711-22.

Kattula D, Sarkar R, Sivarathinaswamy P, Velusamy V, Venugopal S, Naumova EN, et al. The first 1000 days of life: prenatal and postnatal risk factors for morbidity and growth in a birth cohort in southern India. *BMJ Open.* 2014; 4 (7): e005404.

Korotkova M, Gabrielsson B, Lonn M, Hanson L.A, Strandvik B. Leptin levels in rat offspring are modified by the ratio of linoleic to α -linolenic acid in the maternal diet. *Jornal of Lipid Research.* 2002; 43 (10): 1743-1749.

Koletzko B, Cetin I, Brenna T. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *British Journal of Nutrition.* 2007; 98 (5): 873-7.

Kannel WB, Castelli WP, Gordon T, McNamara PM. Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease: the Framingham Study. *Annals of internal medicine.* 1971;74(1):1-12.

Lima MS, Perez GS, Morais GL, Santos LS, Cordeiro GS, Couto RD, et al. Effects of maternal high fat intake during pregnancy and lactation on total cholesterol and adipose tissue in neonatal rats. *Brazilian Journal Of Biology.* 2018; 78: 615-618.

Lundman P, Eriksson MJ, Stühlinger M, Cooke JP, Hamsten A, Tornvall P. Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;38(1):111-6.

Malan A. Ventilation measured by body plethysmography in hibernating mammals and in poikilotherms. *Respiration Physiology*. 1973; 17: 32-44.

Mennitti LV, Oliveira JL, Morais CA, Estadella D, Oyama LM, do Nascimento CMO, et al. Type of fatty acids in maternal diets during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2015;26(2):99-111.

Mozaffarian P, Wu JHY. Effects in risk factors, molecular pathways, and clinical events. *Journal of American College of Cardiology*. 2011; 58 (20): 2047-67.

Mouton AJ, Li X, Hall ME, Hall JE. Obesity, hypertension, and cardiac dysfunction: novel roles of immunometabolism in macrophage activation and inflammation. *Circulation research*. 2020;126(6):789-806.

Nogueira VO. Avaliação dos efeitos das desnutrição proteica perinatal sobre a quimiossensibilidade respiratória central e atividade neuronal no tronco cerebral de ratos [Tese]. Universidade Federal de Pernambuco; 2015.

Nogueira VO, Brito Alves JL, Silva GSF, Costa-Silva JH. Participation of peripheral chemoreceptors in ventilatory alterations and chemosensitivity to CO₂ induced by perinatal protein malnutrition. *I Congresso PanAmericano de Fisiologia*. 2014.

Parlee SD, MacDougald OA. Maternal Nutrition and Risk of Obesity in Offspring: The Trojan Horse of Developmental Plasticity. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1842: 495–506.

Purcell RH, Sun B, Pass LL, Power ML, Moran TH, Tamashiro KKK. Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition, and pup ingestive behavior. *Physiol Behav*. 2011; 104 (3): 474-9.

Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in Young Men after Famine

Exposure in Utero and Early Infancy. New England Journal Of Medicine, Boston. 1976; 295: 349-353.

Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, 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. 1993;123(11):1939-51.

Sawaya AL, Roberts S. Stunting and future risk of obesity: principal physiological mechanisms. Cadernos de Saúde Pública. 2003; 19: 21-28.

Sawaya RD, Breslin KA, Abdulrahman E, Chapman JI, Good DM, Moran L, *et al.* A Global Health Research Checklist for clinicians. International Journal Of Emergency Medicine. 2018; 11: -9, 19.

Sardinha FLC, Fernandes FS, Carmo MGT, Herrera E. Sexdependent nutritional programming: fish oil intake during early pregnancy in rats reduces age-dependent insulin resistance in male, but not female, offspring. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol, 2013; 304: 313-320.

Silva DRB, Miranda Junior PF, Soares EA. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação e lactação. Rev. Bras. Saúde Matern. Infant. 2007; 7: 123-133. 2007.

Silva LMdL, Bloise AMNdLG, Fontes DAF, Araújo KSd, Barbosa MO, Costa-Silva JH. Composition of a maternal high fat diet rich in saturated fats and omega 3 in gestation and lactation for studies with rodents. Revista de Nutrição. 2019; 32.

Sousa CPC, Olinda RA, Pedraza DF. Prevalence of stunting and overweight/obesity among Brazilian children according to different epidemiological scenarios: systematic review and meta-analysis. Sao Paulo Medical Journal. 2016; 134: 251-262.

Valenzuela R, Espinosa A, Gonzáles-Mañán D, D'Espessailles A, Fernández V, Videla LA, *et al.* N-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation Significantly Reduces Liver Oxidative Stress in High Fat Induced Steatosis. PLoS ONE. 2012; 7: e46400.

Vidal-Santos R, Macedo FN, Santana MNS, Melo VU, Alves JLB, Santos MRV, et al. Western diet in the perinatal period promotes dysautonomia in the offspring of adult rats. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 2017; 8 (2): 216-225.

Volpato AM, Schultz A, Magalhães-da-Costa E, de Gusmão Correia ML, Águila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Maternal high-fat diet programs for metabolic disturbances in offspring despite leptin sensitivity. *Neuroendocrinology*. 2012;96(4):272-84.

Zhu WF, Zhu JF, Liang L, Shen Z, Wang YM. Maternal undernutrition leads to elevated hepatic triglycerides in male rat offspring due to increased expression of lipoprotein lipase. *Molecular Medicine Reports*. 2016; 13: 4487-4493.

Tabela 1. Composição em relação aos ingredientes das dietas experimentais

Ingredientes/ quantidade de 100g de dieta	Dieta normoproteica/ normolipídica (AIN-93 G)	Dieta hipoproteí ca (AIN- 93)	Dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados	Dieta hiperlipídica rica em ômega-3 com óleo de linhaça 3,5%
Amido de milho	39	50	15	15
Amido de milho dextrinizado	13	13	-	-
Farinha de trigo	-	-	12	12
Biscoito maisena	-	-	7	7
Farinha de milho	-	-	-	-
Farinha de soja	-	-	6	6
Banha	-	-	2	2
Manteiga	-	-	8	8
Caseína (>85%)	20	9,4	20	20
Goma de guar	-	-	0.5	0.5
Sacarose	10	10	18	18
Óleo de linhaça	-	-	-	3
Óleo de soja	7	7	7	3
Fibra (celulose)	5	5	0.3	0.3
Mix de vitaminas	1	1	0.7	0.7
Mistura mineral	3	3	2	2
DL-metionina	0.3	0,3	0.2	0.2
Bitartarato de colina	0.2	0,2	0.2	0.2
BTH	0.001	0.001	0.01	0.01
Glutamato monossódico	-	-	0.2	0.2
Cloreto de sódio	-	-	0.3	0.3
Total (g)	100	100	100	100
kJ /100g	15	3,64	19	18
% Gordura total	18	5	33	32
% Proteínas	20	9	19	18
% Ômega-3	0.2	0.2	0.2	0.4
% Ômega-6	3	3	5	3

A dieta AIN-93G foi adaptada conforme preconizado por Reeves et al., 1993; a dieta hiperlipídica foi adaptada do estudo de Ferro Cavalcante et al., 2013; a composição nutricional de calorias e percentual calórico das gorduras, proteínas e carboidratos foi determinada a partir da análise centesimal das dietas realizada no laboratório de Bromatologia do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco.

Tabela 2. Caracterização da amostra do acompanhamento dos parâmetros somáticos

Idade/Variável	Grupos				
	NP	LP	HL	HLω3	P valor
1 dia de vida					
Peso (g)	6,5 ± 0,1	6,1 ± 0,1 ^a	7,4 ± 0,2 ^{a, b, d}	6,8 ± 0,1 ^b	<0,00 01
CC (cm)	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,03	1,8 ± 1,1	1,6 ± 0,1	0,042 4
CA (cm)	4,4 ± 0,04	4,6 ± 0,1 ^a	4,6 ± 0,04 ^a	4,5 ± 0,04	0,003 1
CNA (cm)	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,4 ± 0,1 ^{a, b, d}	5,2 ± 0,1	0,001 0
7 dias de vida					
Peso (g)	17 ± 0,3	13 ± 0,3 ^a	21 ± 0,2 ^{a, b, d}	20 ± 0,5 ^{a, b}	<0,00 01
CC (cm)	3,4 ± 0,1	3,3 ± 0,04	2,9 ± 0,1 ^{a, b}	2,9 ± 0,1 ^{a, b}	<0,00 01
CA (cm)	6,2 ± 0,1	5,8 ± 0,1 ^{a, c, d}	6,6 ± 0,1 ^a	6,4 ± 0,1	<0,00 01
CNA (cm)	7,1 ± 0,1	7,1 ± 0,1	7,6 ± 0,1 ^{a, b, d}	7,3 ± 0,1	<0,00 01
14 dias de vida					
Peso (g)	33 ± 0,4	21 ± 0,5 ^{a, c, d}	35 ± 0,5	36 ± 0,6 ^a	<0,00 01
CC (cm)	5,2 ± 0,2	4,9 ± 0,1 ^c	5,8 ± 0,2	5,5 ± 0,1	<0,00 01
CA (cm)	8,1 ± 0,1	6,9 ± 0,2 ^{a, c, d}	8,5 ± 0,1	8,3 ± 0,1	<0,00 01
CNA (cm)	8,7 ± 0,1	8,5 ± 0,1	8,8 ± 0,1	8,5 ± 0,1	0,117 1
21 dias de vida					
Peso (g)	50 ± 1,5	31 ± 0,7 ^{a, c, d}	54 ± 0,8 ^a	54 ± 0,8 ^a	<0,00 01
CC (cm)	7,9 ± 0,2	6,8 ± 0,2 ^{a, c, d}	7,9 ± 0,2	9,5 ± 0,2 ^{a, c}	<0,00 01
CA (cm)	10,2 ± 0,1	8,2 ± 0,1 ^{a, c, d}	10,2 ± 0,1	10,1 ± 0,1	<0,00 01
CNA (cm)	10,6 ± 0,1	10,4 ± 0,1 ^{c, d}	11,8 ± 0,1 ^a	11,5 ± 0,2 ^a	<0,00 01
30 dias de vida					
Peso (g)	94 ± 1,7	65 ± 1,6 ^a	97 ± 2,3 ^b	100 ± 2,6 ^b	<0,00 01
CC (cm)	10,9 ± 0,3	8,4 ± 0,1 ^{a, d}	8,8 ± 0,5 ^a	10,9 ± 0,4 ^c	<0,00 01
CA (cm)	12,0 ± 0,1	9,6 ± 0,1 ^{a, c}	12,7 ± 0,2 ^{a, d}	11,8 ± 0,2	<0,00

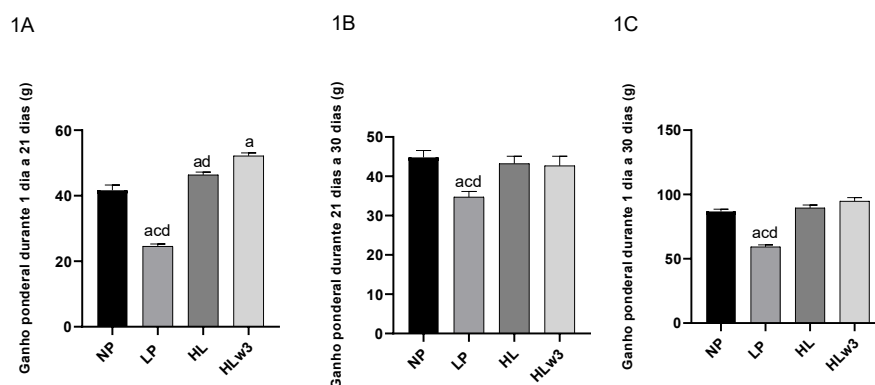
		d			01
CNA (cm)	13,4 ± 0,2	13 ± 0,2	15,7 ± 0,3 ^{a, b, d}	13,8 ± 0,1	<0,00
					01

Acompanhamento dos efeitos da manipulação nutricional sobre os parâmetros somáticos da prole de ratos wistar, proveniente de mães que receberam dieta Controle- C (18% de proteína-PTN e 6% lipídios-LIP); LP (9% de PTN e 5% de LIP); HL (23% de PTN e 32% de LIP) ou HL ω 3 (23% de PTN e 33% de LIP enriquecidos com ω -3), de acordo com o grupo experimental, durante gestação e lactação. Os dados estão expressos em média $\pm$ SEM e foram analisados por one-way ANOVA seguido de pós teste de Newman-Keuls para $p < 0,05$. (a) quando comparado a NP; (b) quando comparado a LP; (c) quando comparado a HL; (d) quando comparado a HL ω 3. Comprimento caudal (CC), circunferência abdominal (CA), comprimento naso-anal (CNA).

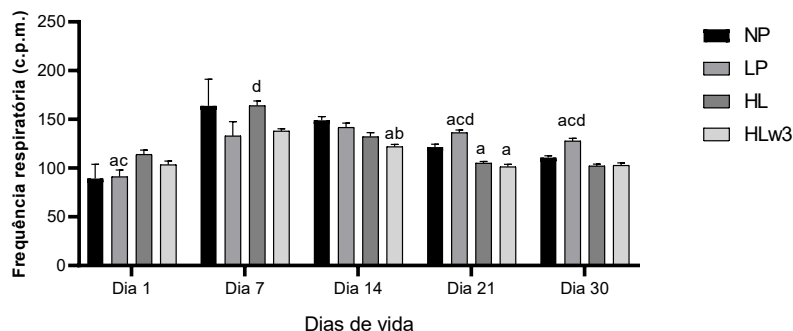
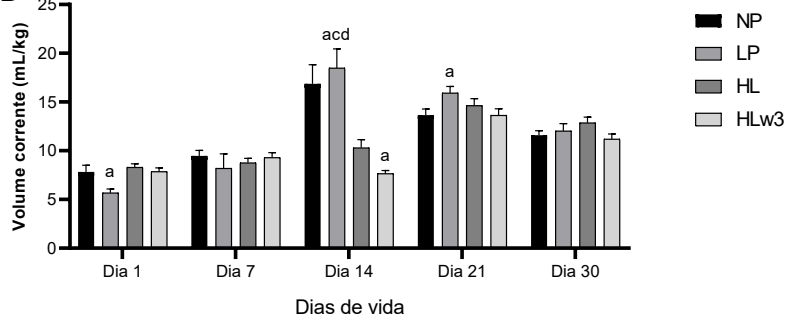
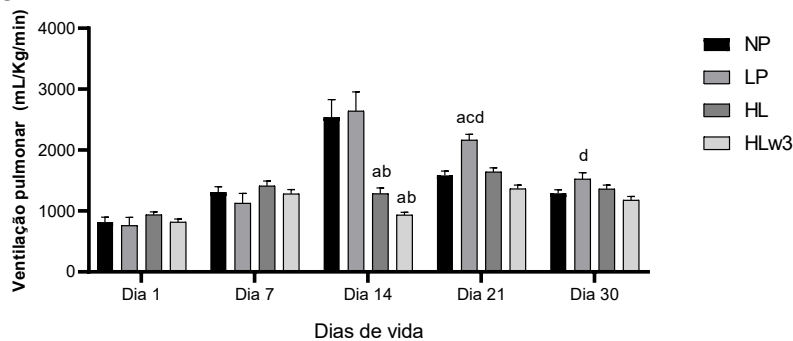
Tabela 3. Caracterização da amostra do acompanhamento dos parâmetros bioquímicos

Idade/Variável	Grupos				
	C	LP	HL	HL ω 3	P valor
21 dias de vida					
Proteínas totais	5,5 $\pm$ 0,1	5,2 $\pm$ 0,1 ^a	5,3 $\pm$ 0,04	5,3 $\pm$ 0,04	0,0057
Albumina	3,4 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1 ^{a, c, d}	4,1 $\pm$ 0,04 ^a	4,2 $\pm$ 0,03 ^a	<0,0001
Glicose	113,0 $\pm$ 3,0	120,3 $\pm$ 4,0	119,3 $\pm$ 3,3	117,0 $\pm$ 1,6	0,3853
Colesterol	106,1 $\pm$ 3,1	109,4 $\pm$ 6,5	126,8 $\pm$ 3,0 ^a	117,3 $\pm$ 2,2	0,0111
Triglicerídeos	135,3 $\pm$ 5,9	103,7 $\pm$ 7,1 ^a	124,2 $\pm$ 6,9	116,3 $\pm$ 4,2	0,0025
30 dias de vida					
Proteínas totais	5,5 $\pm$ 0,1	5,2 $\pm$ 0,1 ^d	5,3 $\pm$ 0,03	5,4 $\pm$ 0,05	0,0183
Albumina	3,8 $\pm$ 0,1	3,5 $\pm$ 0,1 ^{a, c, d}	4,1 $\pm$ 0,02	4,3 $\pm$ 0,03 ^a	<0,0001
Glicose	86,1 $\pm$ 4,3	72,1 $\pm$ 5,4 ^d	87,8 $\pm$ 3,2	100,5 $\pm$ 4,4	0,0088
Colesterol	102,7 $\pm$ 3,7	89,1 $\pm$ 5,2 ^d	123,4 $\pm$ 2,6 ^{a, b}	125,5 $\pm$ 2,9 ^a	<0,0001
Triglicerídeos	209,6 $\pm$ 14,3	259,7 $\pm$ 20,1	151,6 $\pm$ 10,1 ^b	183,5 $\pm$ 15,2	0,0008

Acompanhamento dos efeitos da manipulação nutricional sobre os parâmetros bioquímicos da prole de ratos wistar, proveniente de mães que receberam dieta Controle- C (18% de proteína-PTN e 6% lipídios-LIP); LP (9% de PTN e 5% de LIP); HL (23% de PTN e 32% de LIP) ou HL ω 3 (23% de PTN e 33% de LIP enriquecidos com ω -3), de acordo com o grupo experimental, durante gestação e lactação. Os dados estão expressos em média $\pm$ SEM e foram analisados por one-way ANOVA seguido de pós teste de Newman-Keuls para $p < 0,05$. (a) quando comparado a NP; (b) quando comparado a LP; (c) quando comparado a HL; (d) quando comparado a HL ω 3.

Figura 1

Acompanhamento dos efeitos da manipulação nutricional sobre o ganho ponderal da prole de ratos wistar, proveniente de mães que receberam dieta Controle- C (18% de proteína-PTN e 6% lipídios-LIP); LP (9% de PTN e 5% de LIP); HL (23% de PTN e 32% de LIP) ou HL ω 3 (23% de PTN e 33% de LIP enriquecidos com ω -3), de acordo com o grupo experimental, durante gestação e lactação. Os dados estão expressos em média $\pm$ SEM e foram analisados por one-way ANOVA seguido de pós teste de Newman-Keuls para $p < 0,05$. (a) quando comparado a NP; (b) quando comparado a LP; (c) quando comparado a HL; (d) quando comparado a HLw3.

Figura 2**2A****2B****2C**

Acompanhamento dos efeitos da manipulação nutricional sobre a frequência respiratória, volume corrente e ventilação pulmonar da prole de ratos wistar, proveniente de mães que receberam dieta NP (18% de proteína-PTN e 6% lipídios-LIP); LP (9% de PTN e 5% de LIP); HL (23% de PTN e 32% de LIP) ou HLw3 (23% de PTN e 33% de LIP enriquecidos com ω -3), de acordo com o grupo experimental, durante gestação e lactação. Os dados estão expressos em média $\pm$ SEM e foram analisados por one-way ANOVA seguido de pós teste de Newman-Keuls para $p < 0,05$. (a) quando comparado a NP; (b) quando comparado a LP; (c) quando comparado a HL; (d) quando comparado a HLw3.

ANEXO A - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL DA UFPE

Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Biociências



www.ccb.ufpe.br

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350

Recife, 09 de agosto de 2017.

Ofício nº 67/17

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. João Henrique da Costa Silva**

Centro Acadêmico de Vitória

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº **23076.049500/2016-37**

Certificamos que a proposta intitulada **“Efeitos da suplementação de ômega-3 sobre os parâmetros ventilatórios, de pressão arterial, composição corporal e metabolismo na prole de machos de ratas submetidas à dieta hiperlipídica durante o período perinatal”**, registrada com o nº **23076.049500/2016-37** sob a responsabilidade de **Prof. João Henrique da Costa Silva** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 07/06/2017.

Finalidade	☐ Ensino ☒ Pesquisa Científica
------------	---

Vigência da autorização	Até 08/2019
Espécie/ linhagem/raça	Ratos isogênicos/Wistar
Nº de animais	32
Peso/Idade	200-250g / 90 dias
Sexo	9 machos e 18 fêmeas
Origem	Bioterio do departamento de Fisiologia e Farmacologia – CB/UFPE.

Atenciosamente,


Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691


ANEXO B - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL DA UFPE



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 05 de junho de 2019

Ofício nº 30/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. João Henrique da Costa Silva**

Centro Acadêmico de Vitória

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.046459/2018-17

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação dos efeitos de uma dieta em ácidos graxos saturados sobre a composição corporal, o metabolismo lipídico e a pressão arterial de ratos submetidos a desnutrição perinatal," registrado com o nº 23076.046459/2018-17 sob a responsabilidade de **Prof. João Henrique da Costa Silva** o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 28/05/2019.

Finalidade	☐ Ensino ☒ Pesquisa Científica
Vigência da autorização	28/05/2019 a 01/04/2023
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	68
Peso/Idade	100g/ 30 dias
Sexo	Macho (56) Fêmea (12)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Nutrição
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do CAV

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691