

JACQUELINE ELINEUZA DA SILVA

**REPERCUSSÕES DE UMA DIETA HIPERLIPÍDICA NO
PERÍODO PERINATAL SOBRE A ONTOGÊNESE DOS
REFLEXOS E A MORFOMETRIA INTESTINAL DE
RATOS**

RECIFE

2014

JACQUELINE ELINEUZA DA SILVA

**REPERCUSSÕES DE UMA DIETA HIPERLIPÍDICA NO
PERÍODO PERINATAL SOBRE A ONTOGÊNESE DOS
REFLEXOS E A MORFOMETRIA INTESTINAL DE
RATOS**

Dissertação 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.

Orientador: Prof^a. Ângela Amâncio dos Santos Professora de Fisiologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Universidade Federal de Pernambuco.

RECIFE

2014

Catalogação elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S586r Silva, Jacqueline Elineuza da.
Repercussões de uma dieta hiperlipídica no período perinatal sobre a ontogênese dos reflexos e a morfometria intestinal dos ratos / Jacqueline Elineuza da Silva. – Recife: O autor, 2014.
70 f.: il.; tab.; quad.; gráf.; 30 cm.

Orientador: Ângela Amâncio dos Santos.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
CCS. Programa de Pós-graduação em Nutrição, 2013.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Dieta hiperlipídica. 2. Intestino delgado. 3. Reflexo. 4. Ratos. I. Santos, Ângela Amâncio dos (Orientador). II. Título.

612 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2014-125)

JACQUELINE ELINEUZA DA SILVA

**DIETA HIPERLIPÍDICA DURANTE A GESTAÇÃO E/OU LACTAÇÃO:
REPERCUSSÕES SOBRE A MORFOMETRIA INTESTINAL E A ONTOGÊNESE
DOS REFLEXOS DE RATOS.**

Dissertação aprovada em 27/02/2014

Prof^a Dr^a Elizabeth do Nascimento
Departamento de Nutrição / UFPE

Prof^a Dr^a Ana Paula Rocha de Melo
Departamento de Nutrição / UFPE

Prof^a Dr^a Maria do Carmo Medeiros
Departamento de Nutrição / UFPE

RECIFE

2014

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meu pai **Severino José da Silva** e minha mãe **Elineuza Maria da Silva**, por sempre acreditarem na minha capacidade e incentivarem o meu crescimento profissional, e apesar da origem humilde, souberam me passar à importância e o valor contido nos estudos. Tenho orgulho de vocês.

A meus irmãos **Fábio José da Silva** e **Fagner José da Silva**, pela amizade, pelos conselhos e principalmente por tornarem nossos momentos em família mais divertidos.

Ao meu tio **Edeildo João da Silva** e minha tia **Roberta Benjamim**, por se orgulharem e estarem presentes em cada vitória por mim alcançada.

A meu companheiro **Laércio Marques da Luz Neto**, pelo amor, respeito e companheirismo compartilhado, por ter me acompanhado durante os experimentos, pelos ensinamentos durante a discussão dos resultados, por estar sempre ao meu lado segurando minhas mãos em momentos cruciais, e principalmente, por acreditar em minha capacidade. Você pra mim é um modelo de profissional o qual devo me espelhar, o orgulho que sinto por você é imensurável. Te amo.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por sua presença permanente em minha vida mantendo-me forte nos momentos difíceis.

A minha orientadora, **Ângela Amâncio dos Santos**, pelo exemplo de profissional responsável e dedicada, por ter acreditado em mim e ter me aceitado como orientanda, por ter concordado com o desafio de um tema fora de sua linha de pesquisa, pelos valiosos ensinamentos e esclarecimentos e, principalmente, pela amizade desenvolvida. Muito obrigada.

A professora **Luciana Maia**, pela contribuição em meu ensinamento, pelo apoio e incentivo no desenvolvimento deste trabalho e por estar sempre disponível a me ajudar, até mesmo após sua viagem à França.

As estagiárias **Nathália Lima, Gracyelle Santos e Amanda Santana** pela participação ativa no desenvolvimento deste trabalho e por tornar as horas dedicadas ao laboratório mais divertidas.

A **Paulo**, pela ajuda imensurável no processamento dos blocos histológicos.

As professoras **Paloma Medeiros e Eliete Cavalcanti**, por me receberem de braços abertos no laboratório de histologia para captura de imagens.

A **Jobson Ferraz**, pela paciência em me ensinar os procedimentos para mensuração dos cortes histológicos.

A minha amiga-irmã **Ana Paula da Silva Galdino**, por compreender minha ausência nesses últimos anos dedicados à residência e ao mestrado. Linha eu amo você, nossa amizade é eterna.

*“Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo, à sombra do Onipotente descansará.
Direi do SENHOR: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele
confiarei”.*

Salmo 91

RESUMO

Neste trabalho foram avaliados, durante o período perinatal, a morfometria intestinal e a ontogênese dos reflexos de ratos cujas mães foram alimentadas com uma dieta hiperlipídica. Filhotes machos, da linhagem Wistar ($n=52$), foram divididos em quatro grupos experimentais a depender da dieta materna: NN (filhotes provenientes de mães com dieta padrão durante a gestação e lactação); NH (filhotes provenientes de mães com dieta padrão na gestação e hiperlipídica no aleitamento); HH (filhotes provenientes de mães com dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação); HN (filhotes provenientes de mães com dieta hiperlipídica na gestação e padrão no aleitamento). Durante a lactação foram avaliadas a maturação das características físicas e a ontogenia reflexa. Ao final da lactação foram analisados parâmetros intestinais (peso, comprimento e morfometria). A dieta hiperlipídica durante a gestação (grupos HH e HN) provocou atraso na maturação dos reflexos, mediana 1 (valor mínimo 1 e máximo 3), e das características físicas, mediana 2 (valor mínimo 1 e máximo 3). O peso relativo do intestino foi menor nos filhotes de todos os grupos experimentais ($NH=0,11\pm0,01$; $HH=0,08\pm0,00$ e $HN=0,11\pm0,01$) em comparação ao grupo controle ($NN=0,13\pm0,01$), $P<0,05$. O comprimento relativo do intestino foi maior no grupo HN em comparação ao grupo NN ($7,94\pm0,55$ x $6,97\pm0,65$), $P<0,05$. Em relação à altura total da mucosa e tamanho da vilosidade, apenas o grupo HH apresentou valores reduzidos em comparação ao grupo NN ($5,79\pm0,44$ μm x $8,57\pm1,02$ μm e $4,52\pm0,60$ μm x $6,71 \pm 0,68$, respectivamente). A espessura das vilosidades não apresentou diferença entre os grupos. Em suma, a dieta hiperlipídica provocou consequências negativas ao desenvolvimento do sistema nervoso e quando oferecida durante a gestação e lactação, também provocou efeitos deletérios ao sistema entérico.

Palavras-chave: Dieta hiperlipídica. Reflexos. Intestino delgado. Ratos.

ABSTRACT

This study evaluated during the perinatal period, intestinal morphology and ontogeny of reflexes in rats whose mothers were fed a high fat diet. Male pups, Wistar lineage ($n = 52$), were divided into four groups depending on maternal diet: NN (pups from mothers with laboratory chow diet during pregnancy and lactation), NH (pups from mothers with laboratory chow diet during pregnancy and high-fat diet in lactation), HH (pups from mothers with high-fat diet during pregnancy and lactation), HN (pups from mothers with high-fat diet during pregnancy and laboratory chow diet in lactation). During lactation the maturation of physical characteristics and reflex ontogeny were evaluated. At the end of lactation, intestinal parameters (weight, length, and morphology) were analyzed. A high fat diet during gestation (HH and HN groups) caused delayed maturation of reflexes, median 1 (minimum 1 and maximum 3), and physical characteristics, median 2 (minimum 1 and maximum 3). The relative weight of intestine was lower in pups of all experimental groups ($NH=0.11\pm0.01$; $HH=0.08\pm0.00$ and $HN=0.11\pm0.01$) compared to the control group ($NN=0.13\pm0.01$), $P <0.05$. The relative length of intestine was greater in HN compared to the NN group ($7.94 \pm 0.55 \times 6.97 \pm 0.65$), $P <0.05$. In relation to the total height of the mucosa and villus size, only the HH group showed lower values in comparison with NN group ($5.79\pm0.44 \mu m \times 8.57\pm1.02 \mu m$ and $4.52\pm0.60 \times 6.71\pm0.68 \mu m$, respectively). The thickness of the villi showed no difference between groups. Thus, the high-fat diet caused adverse effects to the developing nervous system and when offered during pregnancy and lactation, also caused deleterious effects system to enteric.

Keywords : High fat diet. Reflexes. Small intestine. mice.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 1 | Formação dos grupos experimentais. | 24 |
| Figura 2 | Teste de preensão palmar dos filhotes durante a lactação. | 25 |
| Figura 3 | Teste de recuperação de decúbito dos filhotes durante a lactação. | 26 |
| Figura 4 | Teste de colocação pelas vibrissas dos filhotes durante a lactação. | 26 |
| Figura 5 | Teste de aversão ao precipício dos filhotes durante a lactação. | 27 |
| Figura 6 | Teste de geotaxia negativa dos filhotes durante a lactação. | 27 |
| Figura 7 | Teste de resposta ao susto dos filhotes durante a lactação. | 28 |
| Figura 8 | Teste de endireitamento em queda livre dos filhotes durante a lactação. | 28 |
| Figura 9 | Avaliação das características físicas dos filhotes durante a lactação. | 29 |
| Figura 10 | Avaliação do crescimento somático dos filhotes durante a lactação. | 30 |
| Figura 11 | Processo de mensuração da altura da vilosidade (linha vermelha), da largura da vilosidade (linhas verdes) e da altura da mucosa (linha amarela). | 32 |

Artigo

| | | |
|----------|---|----|
| Figura 1 | Comprimento da cauda (cm) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 nos quatro grupos experimentais. | 65 |
| Figura 2 | Eixo latero-lateral do crânio (cm) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 nos quatro grupos experimentais. | 66 |
| Figura 3 | Eixo ântero-posterior do crânio (cm) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 nos quatro grupos experimentais. | 67 |
| Figura 4 | Eixo longitudinal (cm) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 nos quatro grupos experimentais. | 68 |
| Figura 5 | Peso corporal (g) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 nos quatro grupos experimentais. | 69 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|---|----|
| Tabela 1 | Composição centesimal das dietas padrão e hiperlipídica. | 22 |
| Tabela 2 | Composição de ácidos graxos da dieta padrão e da dieta Hiperlipídica. | 23 |

Artigo

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Consumo alimentar diário das mães durante gestação e lactação sob regime alimentar padrão e hiperlipídico. | 63 |
| Tabela 2 | Dia da maturação dos reflexos e características físicas dos filhotes durante a lactação. | 63 |
| Tabela 3 | Parâmetros murinométricos dos filhotes ao final da lactação. | 64 |
| Tabela 4 | Peso encefálico e peso e comprimento do intestino dos filhotes ao desmame. | 64 |
| Tabela 5 | Parâmetros morfométricos do intestino de ratos ao desmame. | 64 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Grupos experimentais

| | |
|----|---|
| NN | Grupo dieta padrão na gestação e lactação. |
| NH | Grupo dieta padrão na gestação e dieta hiperlipídica na lactação. |
| HH | Grupo dieta hiperlipídica na gestação e lactação. |
| HN | Grupo dieta hiperlipídica na gestação e dieta padrão na lactação. |

Testes reflexos

| | |
|----|--|
| AP | Aversão ao precipício. |
| CV | Colocação pelas vibrissas. |
| GN | Geotaxia negativa. |
| PP | Preenção palmar. |
| QL | Reação de endireitamento em queda livre. |
| RD | Recuperação de decúbito. |
| RS | Resposta ao susto. |

Características físicas

| | |
|-----|--|
| ACA | Abertura do canal auditivo. |
| APA | Abertura do pavilhão auditivo. |
| AO | Abertura do olho. |
| EII | Erupção dos dentes incisivos inferiores. |
| EIS | Erupção dos dentes incisivos superiores. |

Crescimento somático

| | |
|------|----------------------------------|
| CC | Comprimento da cauda |
| EAPC | Eixo ântero-posterior do crânio. |
| ELLC | Eixo latero-lateral do crânio. |
| EL | Eixo longitudinal. |

Determinações Murinométricas

| | |
|------|-----------------------------------|
| IMC | Índice de massa corporal. |
| TEGP | Taxa específica de ganho de peso. |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. APRESENTAÇÃO | 13 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA | 14 |
| 3. OBJETIVOS | 20 |
| 3.1 Geral | 20 |
| 3.2 Específicos | 20 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 21 |
| 4.1 Animais | 21 |
| 4.2 Manipulação nutricional | 21 |
| 4.3 Grupos experimentais | 23 |
| 4.4 Avaliação do consumo alimentar das mães | 24 |
| 4.5 Avaliação da maturação dos reflexos | 25 |
| 4.6 Avaliação da maturação das características físicas | 28 |
| 4.7 Avaliação do crescimento somático | 29 |
| 4.8 Determinações murinométricas | 30 |
| 4.9 Avaliação post morten | 31 |
| 4.9.1 Peso do encéfalo | 31 |
| 4.9.2 Determinações morfométricas do intestino | 31 |
| 4.10 Análise estatística | 33 |
| 5. RESULTADOS | 33 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS | 34 |
| REFERÊNCIAS | 36 |
| APÊNDICE | 42 |
| Apêndice A – Artigo original | 42 |
| ANEXO | 70 |

1. APRESENTAÇÃO

Aproximadamente 1 bilhão de pessoas no mundo apresentam sobrepeso obesidade com altos índices de prevalência em países ricos (YACH, STUCKLER e BROWNELL, 2006). Atualmente estima-se que 33,8% dos adultos americanos apresentem obesidade (FLEGAL et al., 2010), enquanto que, no Brasil, dados recentes revelam que o número estimado de adultos obesos é de 15,8% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Embora o número de casos seja menor no Brasil, pesquisas tem demonstrado que a prevalência da obesidade tem caráter ascendente.

O aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade está relacionado ao estilo de vida sedentário e ao excesso de ingestão alimentar, podendo estar ligado ao consumo excessivo de dietas ricas em gorduras saturadas (RASMUSSEN et al., 2007). Esse tipo de dieta com alta palatabilidade é chamada de dieta de cafeteria, hiperlipídica ou dieta hiperpalatável.

O impacto da má nutrição sobre o organismo parece exercer seus efeitos mais deletérios quando ocorre no início da vida (MORGANE et al., 1978; 1993; GUEDES et al., 2002; AMANCIO-DOS-SANTOS et al., 2006) pois é período que coincide com a fase de crescimento rápido do cérebro. Análises dos padrões da maturação reflexa são usadas para demonstrar a consolidação e maturação apropriada dos padrões morfofuncionais do sistema nervoso central durante o desenvolvimento (FOX, 1965). Porém estudos que avaliam os efeitos do excesso alimentar sobre o desenvolvimento do sistema nervoso ainda são escassos.

A obesidade afeta a saúde do organismo como um todo. Com relação a seus efeitos sobre o trato gastrointestinal, Stevens e Hume, 1995, afirmam que há estreita correlação entre as dimensões do tubo digestivo, o tamanho do corpo e o tipo de dieta em mamíferos em geral, ou seja, a mucosa intestinal é sensível a alterações neste ambiente, com hipertrofia quando há sobrecarga de alimentos e atrofia quando há uma falta de alimentos (PLUSKE, HAMPSON e WILLIAMS, 1997).

O consumo cada vez maior das dietas de cafeteria por mulheres jovens em idade reprodutiva e o aumento na prevalência da obesidade e suas complicações nessa faixa da população, principalmente durante a gestação e lactação, traz à tona o questionamento sobre quais os reflexos na saúde da prole causados por esse desequilíbrio na oferta de nutrientes em fase de desenvolvimento (OBEN et. al., 2010).

Frente à grande prevalência de obesidade no mundo (YACH, STUCKLER e BROWNELL, 2006), o uso de modelos animais que reproduzem as características de humanos obesos é de extrema importância tanto para elucidar os mecanismos fisiopatológicos quanto para a busca de tratamentos preventivos e curativos para a obesidade. Porém poucos estudos avaliaram os efeitos do consumo de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica durante a gestação e/ou lactação sobre a ontogênese reflexa e morfometria intestinal da prole.

Diante do exposto, estudos que avaliam as repercussões de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica em fases precoces da vida, ou seja, compreendendo os períodos críticos do desenvolvimento, são de grande importância, pois podem fornecer subsídios para o entendimento de processos fisiopatológicos relacionados à obesidade.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Mudanças dos hábitos alimentares e ascensão da obesidade

Segundo Popkin e colaboradores (1993), o conceito de transição nutricional corresponde às mudanças dos padrões nutricionais, modificando a dieta das pessoas e se correlacionando com mudanças sociais, econômicas, demográficas e relacionadas à saúde. A transição nutricional, associada à demográfica, trouxe um novo cenário em termos de morbidade e mortalidade na maioria das regiões do globo, impactando na saúde humana de forma mais ou menos grave (FERREIRA, 2010).

Atualmente, refletindo uma nova organização familiar, adaptada ao estilo de vida ocidental e à globalização percebe-se uma modificação do padrão alimentar, com aumento da alimentação consumida fora de casa, em estabelecimentos onde o preparo e o consumo são rápidos e os alimentos possuem alta palatabilidade (BAYOL *et al.*, 2010). A “epidemia de falta de tempo” do homem tem encurtado aquele dedicado às refeições, de forma que o consumo de alimentos *in natura* é cada vez menor e vem sendo substituído pelos processados. O alto teor energético da dieta da modernidade se deve especialmente ao consumo de gorduras (FERREIRA, 2010).

Esse tipo de dieta com alta palatabilidade é chamada de dieta de cafeteria, hiperlipídica ou dieta hiperpalatável. Têm elevado teor de carboidratos, na sua maioria carboidratos simples, provenientes do uso de cereais refinados; grandes quantidades de gordura, principalmente gorduras saturadas e/ou *trans* e baixo teor de proteínas, fibras

alimentares e micronutrientes (BAYOL *et al.*, 2010; ELAHI *et al.*, 2009). Diversas são as consequências à saúde humana relacionada à dietas de cafeteria, entre elas a capacidade de desenvolvimento da obesidade pela elevada densidade calórica, pelas porções comercializadas e pelas alterações metabólicas provocadas pelo excesso de peso e pelo desequilíbrio na oferta dos macro e micronutrientes (ALBUQUERQUE *et al.*, 2006).

Em resposta às modificações no padrão de comportamento alimentar e da drástica redução na prática de atividades físicas, a transição nutricional trouxe mudanças do perfil de saúde da população brasileira, sendo que o aumento das prevalências do sobrepeso e da obesidade são os principais legados desta transição (GIGANTE *et al.*, 1997; MARINHO *et al.*, 2003; PINHEIRO *et al.*, 2004; COUTINHO, 2008).

O Brasil encontra-se numa fase avançada da transição nutricional e o percentual de indivíduos com excesso de peso supera em muito o daqueles com déficit de peso (MONTEIRO *et. al.*, 2000).

A obesidade é uma doença crônica em expansão e sua prevalência vem aumentando de forma crescente em todas as faixas etárias, em todos os estratos sociais, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, o que a torna epidêmica em alguns países (TROIANO *et.al.*,1995; MONTEIRO e CONDE, 1999; POPKIN e DOAK, 1998).

Epidemiologicamente a obesidade é considerada um dos problemas deste século. De acordo com dados da World Health Organization (WHO) mais de um bilhão de pessoas estão com sobrepeso e dessas, 300 milhões caracterizam-se como obesas (WHO, 2010).

O peso dos brasileiros também vem aumentando nos últimos anos. No Brasil, o principal suporte empírico para esta previsão é resultante da análise de dois inquéritos nacionais, realizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 1974/1975 e em 1989 (MONTEIRO e CONDE, 1999). A análise desses inquéritos mostra um aumento contínuo de excesso de peso e obesidade na população de 20 anos ou mais (IBGE, 2010). No intervalo de tempo entre os dois estudos houve um aumento de sobrepeso na proporção de 58% para homens e 42% para mulheres, e mais alarmante foi o aumento da obesidade, registrando o incrível aumento de 100% para o sexo masculino e 70% para o sexo feminino (FRANCISCHI *et al*, 2000; KAC & VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, 2003; FERREIRA & MAGALHÃES, 2006; NUNES et

al, 2007; SARTURI et al, 2010). Atualmente, segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009 o excesso de peso atingiu cerca de metade dos homens e das mulheres. Eram obesos 12,5% dos homens (1/4 dos casos de excesso) e 16,9% das mulheres (1/3) (IBGE, 2010).

Além de afetar um número considerável de adultos, a obesidade tornou-se uma doença que também atinge crianças e adolescentes, sendo que no período 2007-2008 dados apresentados pelo National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) mostraram que 17,6% das crianças e adolescentes de 2 a 19 estavam obesos nos Estados Unidos (OGDEN et. al., 2010). Embora no Brasil a obesidade ainda não tenha alcançado o percentual americano, a POF 2008-2009 apontou que 4,9% dos adolescentes entre 10 e 19 anos estavam obesos e 20,5% estavam com sobrepeso (IBGE, 2010).

O consumo cada vez maior das dietas de cafeteria por mulheres jovens em idade reprodutiva e o aumento na prevalência da obesidade e suas complicações nessa faixa da população, principalmente durante a gestação e lactação, traz à tona o questionamento sobre quais os reflexos na saúde da prole causados por esse desequilíbrio na oferta de nutrientes em fase de desenvolvimento (OBEN et. al., 2010).

2.2 Nutrição e desenvolvimento

Um suprimento nutricional adequado é imprescindível para a manutenção do crescimento em todos os sistemas orgânicos, como também para o desenvolvimento de suas respectivas funções (MORGANE et. al., 1993). Nesse sentido, tem sido amplamente demonstrado que o impacto da má nutrição sobre o organismo parece exercer seus efeitos mais deletérios quando ocorre no início da vida (MORGANE et al., 1978; 1993; GUEDES et al., 2002; AMANCIO-DOS-SANTOS et al., 2006).

No organismo, o sistema nervoso desempenha papel principal no controle de vários processos fisiológicos. Durante o desenvolvimento, esse sistema apresenta um período de crescimento rápido ou um período vulnerável que corresponde à maior taxa de diferenciação e migração celular, neurogênese, sinaptogênese, maturação e mielinização das vias de neurotransmissores. Dependendo das espécies de animais, este período crítico de desenvolvimento neural intenso ocorre em fases diferentes precocemente na vida (DOBBING, 1968). Em ratos, a maioria dos eventos relacionados

com o período crítico de desenvolvimento ocorre durante os primeiros 21 dias pós-natais, o que corresponde ao período de amamentação (MORGANE et. al., 1978; DUBOVICKY', UJHA'ZY e JEZOVA', 1996). Em humanos, ocorre durante o último trimestre de gestação até o segundo ano de vida (WALKER, 2005).

Nessas fases, as estruturas cerebrais são altamente vulneráveis a vários tipos de insultos (MORGANE et. al., 1993), e os eventos que ocorrem precocemente durante o desenvolvimento do sistema nervoso influenciam o padrão final das conexões entre as células nervosas. Dentre os fatores ambientais que podem afetar o sistema nervoso, os nutricionais possuem uma forte influência (KANDEL, SCHWARTZ, JESSEL, 1997).

O cerebelo é um componente do sistema nervoso que tem sido tradicionalmente visto como uma parte do sistema nervoso central motor responsável pela iniciação e regulação dos movimentos padrões (STRICK e MIDDLETON, 1994). Logo, as alterações que podem ocorrer no desenvolvimento do sistema nervoso, em virtude de modificações dietéticas, podem também influenciar a maturação reflexa.

Os reflexos são respostas fisiológicas relacionadas diretamente com o movimento. Qualquer movimento exige a atividade conjunta de muitos músculos e a forma mais elementar dessa coordenação motora é representada pelo reflexo. Um ato reflexo é a resposta, relativamente estereotipada, a um estímulo sensorial específico (KANDEL, SCHWARTZ, JESSEL, 1997). Além de seu papel primordial na atividade motora, os reflexos também podem indicar o estágio de maturação do sistema nervoso.

Desde 1965, Fox estudou um espectro de reflexos correlacionado a sua consolidação com dados conhecidos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso e comportamental do camundongo. Desde essa época, ele demonstrou que a aplicação de testes comportamentais e neurológicos podem servir como indicador útil para identificar as etapas sequenciais de desenvolvimento normal do cérebro.

Além do sistema nervoso e da maturação reflexa, o intestino também é um órgão que pode modificar o seu funcionamento quando da vigência de insultos nutricionais. Caracteriza-se por ser um tubo oco composto por uma luz, circundado por uma parede formada por quatro camadas distintas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. A mucosa do intestino delgado apresenta algumas estruturas que aumentam sua superfície, aumentando assim a área disponível para a absorção dos nutrientes. Uma dessas estruturas são as vilosidades intestinais ou vilos, que são projeções alongadas da mucosa, em direção ao lúmen, com cerca de 0,5 – 1,5 mm de comprimento

(JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Ou seja, o intestino delgado, em especial, é o órgão responsável pela digestão e absorção de nutrientes; possui uma grande área de superfície, sendo estruturalmente adaptado para realizar suas funções (KONTUREK, 2004).

Tanto durante as fases iniciais da vida, como na senescência, o intestino delgado está sujeito a alterações estruturais e funcionais que podem ser potencializadas ou reduzidas de acordo com as influências do meio externo (GOODLAD e WRIGHT, 1990; PACHÁ, 2000). Isto é, a mucosa intestinal é sensível a injúrias em seu ambiente; ela pode hipertrofiar, quando há sobrecarga de alimentos, ou atrofiar, quando a condição contrária se estabelece (PLUSKE, HAMPSON e WILLIAMS, 1997). Este processo pode ser avaliado através da morfometria, que embora o termo tenha aplicação ampla na ciência, o sentido em biomedicina, em última análise seria a “Atividade de medir estruturas anatômicas” (TEIXEIRA et.al., 2001).

Estudos experimentais têm investigado os efeitos que a dieta materna pode exercer sobre os filhos, sobretudo, nos períodos críticos do desenvolvimento, como na gestação e lactação, submetendo-as aos efeitos da desnutrição, como na restrição calórica (ZHIXIONG *et al.*, 2009). Os efeitos da desnutrição intra-uterina dependem da fase de desenvolvimento em que está o feto ou o órgão, sendo os efeitos tanto mais intensos e permanentes quanto mais precocemente ocorrer a desnutrição e mais tardio for início da recuperação nutricional (PATRÍCIO, NÓBREGA e TONETE, 1984).

Pesquisas analisando o desenvolvimento do sistema nervoso, por meio da ontogênese reflexa, mostram que ratos submetidos a dietas carentes em ácidos graxos essenciais e desnutrição proteica (ANSELMO et. al., 2006) e multicarencial (ANSELMO et. al., 2006; ANSELMO et. al., 2008), durante a gestação e a lactação, apresentaram retardamento na maturação reflexa e somática.

Além disso, sabendo que a desnutrição pode causar alterações celulares em diversos tecidos, os primeiros a sofrerem pela falta de proteínas são aqueles de alta renovação celular, como a mucosa intestinal (DEO, 1978). De fato, estudos relataram mudanças morfológicas e morfométricas nas camadas intestinais causadas por deficiência protéica (TAKANO, 1964; SHRADER e ZEMAN, 1969; NATALI et al., 1995; TORREJAIS et al., 1995; BRANDÃO, 1998).

Porém, há que se considerar que, na sociedade ocidental atual, os insultos intra-uterinos relacionados à mãe, seriam mais relacionados ao seu estado de saúde e o

consumo de gorduras em excesso, bem como o tipo de gordura (GIRAUDO *et al.*, 2010). Diversas alterações em diferentes aspectos do organismo podem levar ao desenvolvimento ou ao favorecimento de um quadro de excesso de peso e adiposidade visto que diversos sistemas podem receber influência do ambiente externo e se adaptar a elas, incluindo o sistema gastrointestinal (PLANAS et. al., 1992; MOZES et. al., 2004; MOZES, ŠEFCIKOVA e LENHARDT, 2007; ŠEFCIKOVA et. al., 2007).

De fato, há relatos da influência da dieta sobre o comprimento do intestino delgado (PLANAS et. al., 1992), sobre a efetividade da absorção de nutrientes (ŠEFCIKOVA et. al., 2007), alteração da atividade enzimática nos enterócitos em resposta ao aumento na concentração de lipídeos (MAHMOOD, SHAO e ALPERS, 2003), assim como sobre aspectos morfológicos como a altura dos vilos e profundidade das criptas (SAGHER et. al., 1991).

Estabelece-se desta forma, um antagonismo de tendências temporais entre desnutrição e obesidade, definindo uma das características marcantes do processo de transição nutricional do País (FILHO e RISSIN, 2003).

2.3. Modelos experimentais

Entre os determinantes ambientais de obesidade, os hábitos dietéticos têm um papel preponderante. Ao lado da alta densidade energética dos alimentos atualmente consumidos, certas composições dietéticas (excesso de gorduras saturadas e sal e consumo insuficiente de frutas e hortaliças), especialmente se associadas à inatividade física, aumentam a adiposidade corporal e apresentam forte associação com as Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT) (WHO, 2003). O crescente número de indivíduos acometidos por essas doenças e com as faixas etárias menores cada vez mais atingidas, traz a preocupação sobre as consequências do aparecimento precoce dessas comorbidades e o desenvolvimento a longo prazo, com os impactos na saúde desses indivíduos (WHO, 2006; IBGE, 2010).

Alimentos ricos em gorduras, especialmente em ácidos graxos saturados e trans, típicos da dieta ocidental, são os vilões do momento (FERREIRA, 2010). O modelo que mais se assemelha à obesidade em humanos é o de obesidade exógena, onde é oferecido aos modelos animais um aporte calórico maior, por meio de uma sobrecarga de carboidratos ou gordura, que podem ser oferecidos isoladamente ou em associação.

Esta dieta é denominada dieta “ocidentalizada”, de *fast-food* ou dieta de cafeteria (SUREDA et al., 1995; MACQUEEN et al., 2007; SHAFAT et al., 2009).

Este modelo experimental tem o intuito de aumentar o consumo calórico (AGIUS et. al., 1980) possibilitando analisar os efeitos da dieta alimentar industrializada sobre o organismo e que, em geral, ocasiona um aumento acentuado no peso e na adiposidade dos animais a ela submetida, com exceção dos organismos resistentes (ŠEFCIKOVA et. al., 2007).

O fornecimento da dieta de cafeteria aos animais pode ser iniciado em diferentes fases da vida, em alguns estudos o acesso à dieta ocorre aos 7 dias após o parto (DAMETO et. al., 1994), em outros, os animais são submetidos à dieta após o desmame (PRATS et. al., 1989), ou ainda, quando adultos (ROTHWELL e STOCK, 1979).

Estudos que avaliam as repercussões do excesso alimentar sobre a morfometria intestinal, sobretudo em períodos críticos do desenvolvimento, ainda são escassos. Além disso, já são bem conhecidas as repercussões da privação alimentar sobre o desenvolvimento do sistema nervoso, no entanto, poucos estudos têm se dedicado a observar esses efeitos quando da vigência da hipernutrição. Dessa forma, o presente trabalho se propõe a avaliar os efeitos de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica durante períodos críticos do desenvolvimento do rato, a saber, gestação e lactação, sobre a ontogênese reflexa e morfometria intestinal da prole.

3. OBJETIVOS

3.1Geral

Avaliar a morfometria intestinal e a ontogênese dos reflexos de ratos cujas mães foram alimentadas por uma dieta hiperlipídica durante a gestação e/ou lactação.

3.2Específicos:

- Avaliar o consumo alimentar das mães;
- Investigar, nos filhotes, o efeito da ingestão materna de uma dieta hiperlipídica durante a gestação, ou a lactação, ou ambos, sobre:
 - a ontogênese reflexa;
 - a maturação das características físicas;
 - a evolução ponderal e peso encefálico;

- o crescimento somático;
- as medidas murinométricas;
- altura total da mucosa e a altura e espessura das vilosidades intestinais dos animais ao desmame.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados ratos albinos, da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Todos os procedimentos experimentais descritos a seguir foram realizados somente após análise e aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da UFPE (processo nº 23076.039142/2012-21). Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, à temperatura ambiente de $22\pm1^{\circ}\text{C}$, a um ciclo artificial claro-escuro de 12/12 horas (o escuro iniciando-se às dezenove horas) e com acesso livre à água e comida.

Aos 90-120 dias de idade, ratos machos e fêmeas primíparas foram acasaladas na proporção 1:2 ou 1:3, respectivamente, para obtenção das ninhadas. As fêmeas gestantes foram mantidas em gaiolas individuais sendo submetidas a um dos regimes alimentares descritos no item 2. Vinte e quatro horas após o parto (primeiro dia de vida, considerando-se o dia de nascimento como dia zero), os filhotes foram distribuídos aleatoriamente, em ninhadas de seis animais por mãe.

4.2. Manipulação nutricional

Os animais foram submetidos a um dos seguintes regimes alimentares:

- 1 – dieta Presence Ratos e Camundongos®, que constitui a dieta padrão do biotério (Agribrends Purina do Brasil, LTDA); ou,
- 2 – dieta hiperlipídica, que foi fornecida com o objetivo de induzir obesidade nos animais.

A dieta experimental consiste em uma mistura normoproteica e hiperlipídica adaptada de Estadella et al., 2004. É constituída por ração comercial Presence Ratos e

Camundongos®, acrescida de amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1, respectivamente. Destes constituintes, a ração, o amendoim e o biscoito foram moídos em trituradores elétricos, já o chocolate foi derretido em banho-maria. Após essa primeira fase, todos os ingredientes foram misturados até formarem uma massa, que foi posteriormente deixada em estufa até secar e oferecida na forma de péletes aos animais. A densidade calórica para a dieta hiperlipídica foi de 4,8 kcal/100g (24,5% de Lipídios) enquanto que, a dieta padrão, apresentou 3,8 kcal/100g (4% de Lipídios) (FERREIRA-DA-SILVA et al., 2010). A composição centesimal das dietas está apresentada na tabela 1 e a composição de ácidos graxos da dieta padrão e da dieta hiperlipídica está mostrada na tabela 2.

Tabela 1 - Composição centesimal das dietas padrão e hiperlipídica (adaptada de FERREIRA-DA-SILVA et al., 2010).

| DIETA | PADRÃO | HIPERLIPÍDICA |
|--|--------|---------------|
| Calorias (kcal/100g) | 380,00 | 480,94 |
| Proteínas (g/100g) | 23,00 | 17,93 |
| Lipídeos (g/100g) | 4,00 | 24,50 |
| Carboidratos (g/100g) | 63,00 | 47,18 |
| Cinzas (g/100g) | - | 3,62 |
| Umidade e substâncias voláteis (g/100g) | - | 6,77 |

Tabela 2- Composição de ácidos graxos da dieta padrão e da dieta hiperlipídica (OLIVEIRA *et al*, 2011).

| Acidos Graxos | Acidos Graxos Totais % | |
|------------------|------------------------|-------|
| | P | HL |
| C12:0 | ND | 13,81 |
| C14:0 | ND | 5,81 |
| C16:0 | 15,86 | 12,65 |
| C18:0 | 3,31 | 6,08 |
| C18:1 m-9 cis | 26,24 | 34,52 |
| C18:1 o-9 trans | 1,18 | 0,41 |
| C18:2 o-6 cis | 49,68 | 21,68 |
| C18:3 o-3 | 3,72 | 0,27 |
| C20:0 | ND | 0,77 |
| C20:1o-9 | ND | 0,80 |
| C22:0 | ND | 1,58 |
| C24:0 | ND | 1,01 |
| Total SFAs | 19,17 | 41,71 |
| Total MUFA s cis | 26,24 | 35,32 |
| Total PUFA s cis | 53,4 | 21,95 |
| Total TFAs | 1,18 | 0,41 |
| PUFA: SFA | 2,78 | 0,53 |
| o-6: o-3 | 13,35 | 80,3 |

P, dieta padrão; HL dieta hipercalórica e hiperlipídica; SFA, ácido graxo saturado; MUFA, ácido graxo monoinsaturado; PUFA, ácido graxo poliinsaturado; TFA, ácido graxo trans; ND, não detectado.

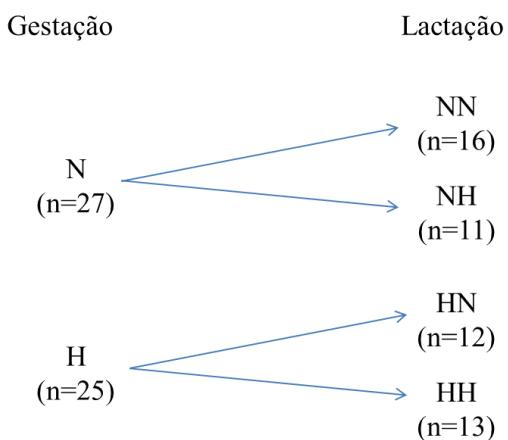
4.3. Grupos experimentais

Os grupos experimentais foram formados por filhotes machos e mantidos em uma das condições descritas a seguir:

- 1. Grupo dieta padrão na gestação + lactação (NN)** – Os filhotes desse grupo (n=16) foram gerados e aleitados por fêmeas que receberam somente a dieta padrão em todo o período de experimento.
- 2. Grupo dieta padrão na gestação + dieta hiperlipídica na lactação (NH)** – Nesse grupo (n=11), as matrizes receberam a dieta padrão na gestação, mas passaram a consumir a dieta hiperlipídica no aleitamento.

- 3. Grupo dieta hiperlipídica na gestação + dieta padrão na lactação (HN)** – As matrizes consumiram durante a gestação a dieta hiperlipídica, porém durante o aleitamento passaram a se alimentar com a dieta padrão ($n=12$).
- 4. Grupo dieta hiperlipídica na gestação + lactação (HH)** – As matrizes consumiram, desde a gestação até a lactação, a dieta hiperlipídica ($n = 13$).

Figura 1 – Formação dos grupos experimentais



N = Dieta padrão na gestação; H = Dieta hiperlipídica na gestação; NN = Dieta padrão na gestação + lactação; NH = Dieta padrão na gestação + hiperlipídica na lactação; HN = Dieta hiperlipídica na gestação + padrão na lactação e HH = Dieta hiperlipídica na gestação + lactação.

Dados da literatura trazem que os efeitos de uma dieta hiperlipídica sobre os modelos animais surgem a partir de três semanas do consumo da mesma (DUARTE, 2001). Diante disso, para análise da maturação do desenvolvimento reflexo e características físicas apenas dois grupos foram formados associando os grupos NN com NH e HH com HN, formando assim, o grupo controle e hiperlipídico, respectivamente.

4.4 Avaliação do consumo alimentar das mães

O consumo alimentar das ratas durante a gestação e lactação foi avaliado diariamente. Foram ofertados cerca de 50 a 60g (em pellets) e após 24 horas quantificaram-se as sobras.

4.5 Avaliação da Maturação dos Reflexos

Em cada animal dos dois grupos que permaneceram até o desmame foi analisada a ontogenia reflexa caracterizada segundo o protocolo de Fox, 1965. Os reflexos foram investigados desde o 1º dia de vida do animal até o dia de sua consolidação, das 12:00 às 14:00 horas da tarde. O reflexo é considerado consolidado quando a resposta total é observada de maneira inequívoca. O dia da maturação do reflexo foi estabelecido como o primeiro dia na seqüência de três dias consecutivos de aparecimento completo da resposta reflexa esperada. As avaliações foram procedidas utilizando-se instrumentos elaborados ou existentes no laboratório. Abaixo estão descritos os reflexos que foram avaliados.

- **Prensão Palmar (PP)** – Foi utilizado um bastonete, com aproximadamente 5 cm de comprimento por 1 mm de diâmetro. Foi feita uma leve percussão na palma da pata dianteira esquerda de cada animal. A resposta foi considerada negativa (Neg), se houve 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. Foi registrado, portanto, o dia do seu desaparecimento como positivo (P).



Fonte: Barros, 1999.

Figura 2 – Teste de preensão palmar dos filhotes durante a lactação.

- **Recuperação de Decúbito (RD)** - O rato foi colocado em decúbito dorsal sobre uma superfície plana. Durante 10 segundos, foi observada a eventual resposta parcial ou total de endireitamento corporal, com retorno ao decúbito ventral. Foram consideradas as

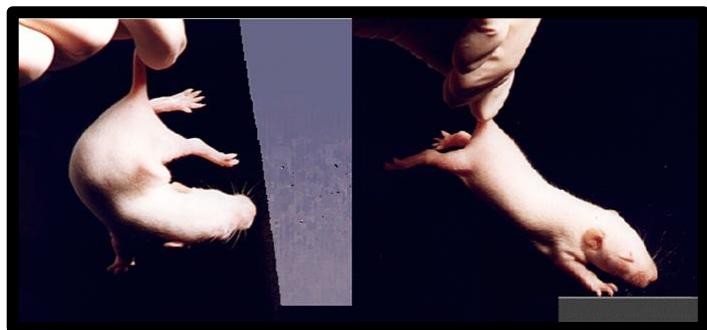
respostas: Neg, quando o animal não conseguiu sair da postura em que fora colocado; P, quando o animal girou o corpo e assumiu o decúbito ventral, apoiado sobre as quatro patas, dentro de um período máximo de 10 segundos.



Fonte: Barros, 1999.

Figura 3 – Teste de recuperação de decúbito dos filhotes durante a lactação.

- **Colocação pelas Vibrissas (CV)** - O rato foi suspenso pela cauda de tal forma que suas vibrissas tocassem levemente a borda de uma mesa, sendo assim mantido. Foram consideradas como respostas: Neg, a ausência de orientação de movimentos em direção ao apoio; P, o animal colocou as duas patas anteriores sobre a mesa e realizou movimentos de marcha, associados com extensão do tronco, dentro de no máximo de 10 segundos.



Fonte: Barros, 1999.

Figura 4 – Teste de colocação pelas vibrissas dos filhotes durante a lactação.

Aversão ao Precípicio (AP) - 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 P quando o animal, no tempo máximo de 10 segundos, se deslocou para um dos lados (num ângulo de pelo menos 90 graus) e caminhou em

sentido contrário à borda, caracterizando a aversão ao precipício. A resposta Neg foi caracterizada por ausência de qualquer reação e/ou queda do animal.



Fonte: Barros, 1999.

Figura 5 – Teste de aversão ao precipício dos filhotes durante a lactação.

Geotaxia Negativa (GN) - 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 (medindo 34 x 24 cm) revestida com material antiderrapante (papel crepon). Foram consideradas como respostas: P, se o animal, num período máximo de 10 segundos, girou aproximadamente 140 graus, posicionando a cabeça em sentido ascendente; abaixo deste ângulo, foi considerada resposta Neg.



Fonte: Barros, 1999.

Figura 6 – Teste de geotaxia negativa dos filhotes durante a lactação.

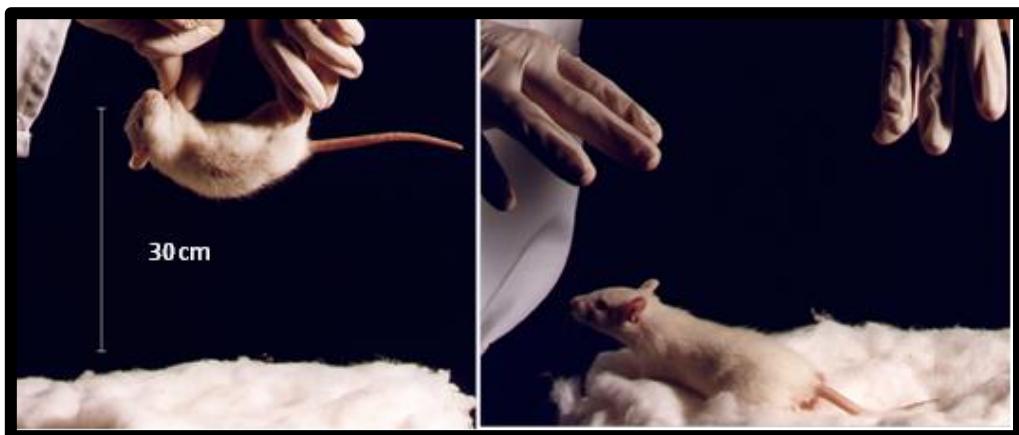
Resposta ao Susto (RS) - O rato foi submetido a um ruído súbito, produzido pela percussão de um bastão metálico sobre um recipiente também metálico (4,5 cm de diâmetro x 6 cm de altura) a uma distância aproximada de 10 cm do animal. A resposta foi considerada P, quando ocorreu uma retração simultânea com a imobilização rápida e involuntária do corpo do animal, que constitui a característica de susto.



Fonte: Barros, 1999.

Figura 7 – Teste de resposta ao susto dos filhotes durante a lactação.

Reação de Endireitamento em Queda Livre (QL) - 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, servirá como guia). O animal foi então solto e sua queda livre foi observada sobre um leito de espuma sintética (30 x 12 cm). A resposta foi considerada P, quando o animal realizou uma rotação do corpo, voltando o ventre para baixo e caindo na superfície do leito apoiado sobre as quatro patas.



Fonte: Barros, 1999.

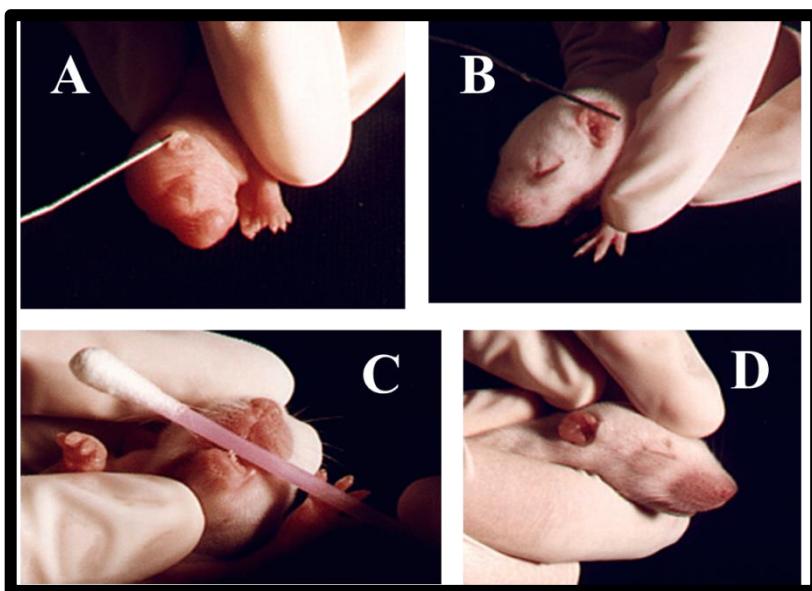
Figura 8 – Teste de endireitamento em queda livre dos filhotes durante a lactação.

4.6 Maturação das características físicas

Desde o primeiro dia pós-natal em diante, os filhotes foram examinados diariamente para determinar o dia em que ocorreu a maturação completa das seguintes características físicas (tomadas como indicadores de desenvolvimento somático):

- Abertura do pavilhão auditivo (APA);

- Abertura do canal auditivo (ACA);
- Erupção dos dentes incisivos superiores e inferiores (respectivamente, EIS e EII);
- Abertura do olho (AO);



Fonte: Barros, 1999

A= abertura do pavilhão auditivo; B= abertura do canal auditivo; C= erupção dos dentes incisivos superiores e inferiores; D= abertura do olho.

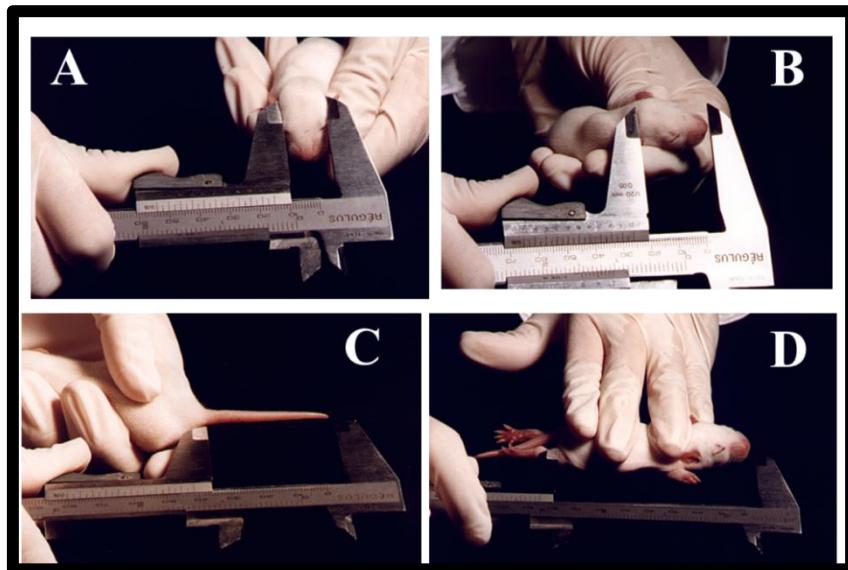
Figura 9 – Avaliação das características físicas dos filhotes durante a lactação.

4.7 Crescimento somático

A obtenção dessas medidas foi realizada semanalmente durante o período da lactação utilizando paquímetro digital, com acurácia de 0,01mm para obtenção das medidas murinométricas do animal (SILVA et. al., 2005). Foram avaliados:

- **Comprimento da cauda (CC):** o animal foi contido delicadamente com uma das mãos do pesquisador. Foi estendida a cauda do animal e marcado com uma caneta na mesa o inicio e fim da cauda. Essa medida foi depois realizada com o auxílio de uma régua.
- **Eixo latero-lateral do crânio (ELLC):** Este eixo é representado pela linha imaginaria perpendicular ao eixo longitudinal do crânio, dividindo os pavilhões auriculares ao meio. O pesquisador conteve o animal com uma das mãos, tendo a cabeça entre o dedo indicador e o polegar, e, com auxilio do paquímetro, procedeu-se a medida.

- **Eixo ântero-posterior do crânio (EAPC):** Para a medida do eixo ântero-posterior do crânio, se tomou como referência a linha média que vai da extremidade do focinho até o ponto de interseção com outra linha perpendicular imaginária. Essa linha passa tangencialmente às extremidades posteriores dos pavilhões auriculares. O pesquisador conteve o animal delicadamente mantendo a cabeça do animal entre os dedos indicadores e polegar. Procedeu então a medida com o auxílio do paquímetro.
- **Eixo longitudinal (EL):** O eixo longitudinal foi medido contendo o animal delicadamente. Os dedos anular, médio e indicador do pesquisador comprimiram respectivamente as regiões dorso-anterior, dorso-posterior do corpo e a cauda animal de encontro à superfície da mesa. Em seguida realizaram-se marcas na mesa coincidentes com o focinho e a base da cauda do animal. Então, procedeu a medida com uma régua da distância, em cm, entre os pontos obtidos.



Fonte: Barros, 1999.

A= eixo latero-lateral do crânio; B= eixo ântero-posterior do crânio; comprimento da cauda; eixo longitudinal.

Figura 10 – Avaliação do crescimento somático dos filhotes durante a lactação.

4.8 Determinações Murinométricas

- **Evolução ponderal** - Os animais foram pesados (balança digital com sensibilidade até 0,1 g) nos dias 1, 7, 14 e 21(dia do desmame).

- Avaliação da taxa específica de ganho de peso - A taxa específica de ganho de peso foi realizada ao 21º dia, tendo como referencial o peso corporal do 1º dia de vida. Esta medida foi calculada pela fórmula:

Taxa específica de ganho de peso(g/Kg) = $(dM/M)dt$, onde

dM = Ganho de peso corporal durante dt ($dt=t2-t1$)

M = Peso corporal do rato em $t1$

- Determinação do Índice de Massa Corporal (IMC) e Índice de Lee - Foram avaliados os índices da composição corporal e o percentual de gordura dos animais segundo adaptação de protocolo de Novelli et al, 2007. Na idade de 21 dias foram obtidos o IMC e o índice de Lee através das equações:

$IMC = \text{peso (g)}/\text{comprimento nasoanal}^2 (\text{cm})^2$

$\text{Índice de Lee} = \sqrt[3]{\text{peso (g)}}/\text{comprimento nasoanal (cm)}$

4.9 Avaliações post mortem

4.9.1 Peso do encéfalo

Após o sacrifício, o encéfalo foi retirado e pesado em balança digital com sensibilidade até 0,1 g. O valor obtido foi utilizado para cálculo do peso relativo. Em seguida, foi colocado em estufa por 72 horas para obtenção do peso seco.

4.9.2 Determinações morfométricas do intestino

A análise morfométrica do intestino foi realizada ao final da lactação, entre 21º e 25º dia pós-natal, quando foram utilizados cinco filhotes dos grupos NN e NH e seis filhotes dos grupos HN e HH.

O sacrifício foi realizado através de *overdose* com uma mistura dos anestésicos uretana (1000 mg/kg) e alfa-cloralose (40 mg/kg). Em seguida, os órgãos abdominais foram removidos em bloco único e o intestino foi retirado por liberação do mesentério e pesado em balança digital com sensibilidade até 0,1 g. O valor obtido foi utilizado para cálculo do peso relativo. O intestino foi retificado e medido com uma régua sobre a bancada. Fragmentos do jejuno foram mergulhados em formalina a 10% tamponada, por um período de 48 horas. Todo o material foi incluído em parafina e os cortes

histológicos foram obtidos com espessura de aproximadamente 5 μm através do micrótomo (Leica); corados por Hematoxilina-Eosina (HE) e por fim montados com resina sintética (Entellan-Merck).

Imagens dos cortes histológicos transversais foram selecionadas aleatoriamente em microscópio e capturadas em microcomputador. De cada corte histológico foram selecionadas 10 vilosidades íntegras, ou seja, bem orientadas, com porção basal, medial e apical aparentes e contínuas. Após a captura, utilizando objetiva de 10X, foram medidos os seguintes parâmetros:

- **Altura da vilosidade** – traçando linha reta com o cursor do computador desde o centro da porção basal da vilosidade até o ápice;
- **Altura total da mucosa** – traçando linha reta com o cursor entre o ápice da vilosidade e o limite inferior do fundo da cripta de Lieberkühn;
- **Espessura da vilosidade** – medidas entre duas bordaduras estriadas e compreendendo a média das distâncias aferidas por retas traçadas com o cursor nas porções apical, medial e basal da vilosidade;



Figura 11- Processo de mensuração da altura da vilosidade (linha vermelha), da largura da vilosidade (linhas verdes) e da altura da mucosa (linha amarela).

Para essas análises, foi utilizado um microcomputador com o programa de análise de imagens ImageLab2000. Para realização da pesquisa foi utilizado um microscópio óptico Motic BA 200 (objetiva 10X). O programa “Imaje J” foi utilizado para a mensuração.

Além das análises microscópicas, também foi avaliado o comprimento do intestino delgado, que foi medido desde o piloro até a junção íleo-cecal utilizando uma régua.

4.10 Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o programa Sigma Stat 3.5, sendo considerada a significância um valor de $P < 0,05$. A normalidade das medidas foi avaliada através do teste de Kolmogorov Smirnov. Os dados paramétricos foram analisados pela análise de variância (ANOVA) para comparações múltiplas entre os grupos. Quando detectada diferença entre os grupos, utilizou-se o pós-teste de Tukey. Para dados não paramétricos se utilizou o teste de Mann-Whitney para duas amostras independentes.

5. RESULTADOS

Os resultados permitiram a elaboração de um artigo original que está descrito no apêndice A. O artigo será submetido para apreciação da Revista de Nutrição da Puccamp, ISSN 1415-5273 (conceito Qualis B1, fator de impacto 0,156).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

O desenvolvimento desta pesquisa permitiu as seguintes considerações finais a respeito do tema estudado:

- ✓ A dieta hiperlipídica provocou redução no consumo alimentar materno comprometendo, possivelmente, o aporte adequado de proteínas à prole.
- ✓ Houve retardo na ontogênese reflexa e maturação das características físicas nos filhotes cujas mães receberam a dieta hiperlipídica, o que pode ter ocorrido devido a uma deficiência de ácidos graxos essenciais na dieta; ou ainda, por menor aporte de proteínas.
- ✓ O menor consumo proteico nas matrizes com dieta hiperlipídica durante a lactação provocou redução do peso corporal, em parâmetros do crescimento somático, no IMC e na TEGP nos filhotes. Enquanto que, os filhotes que sofreram influência desta dieta apenas na gestação, apresentaram recuperação do peso corporal e das medidas do crescimento somático ao desmame, podendo ter ocorrido o chamado *catch up* de crescimento.
- ✓ O “fenótipo econômico” parece ter ocorrido nos descendentes de mães que receberam dieta hiperlipídica durante a lactação. Pois, eles apresentaram aumento do peso relativo do cérebro e redução do peso intestinal.
- ✓ Reduções na altura total da mucosa e na altura das vilosidades intestinais foram observadas nos filhotes que sofreram influência da dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação, possivelmente, devido ao maior período de exposição à carência de proteínas.

Ao término deste trabalho foram levantadas novas hipóteses que levam à continuação deste e de mais estudos nesta temática:

- ✓ Estudar a influência isolada do excesso de lipídios. Pois, a provável deficiência proteica observada no presente estudo parece ter exercido forte influência nos resultados obtidos.
- ✓ Utilizar uma dieta padrão e hiperlipídica a base de caseína para comparar com os resultados obtidos no presente estudo.

- ✓ Avaliar o perfil lipídico e quantificar o teor de gordura nesses animais.
- ✓ Analisar, na vida adulta, além dos parâmetros morfométricos do intestino, o sistema nervoso entérico de animais que receberam influencia da dieta hiperlipídica em diferentes fases da vida.
- ✓ Avaliar o comportamento de ansiedade e depressão e o desempenho cognitivo nos animais adultos para fornecer mais informações sob a influência da dieta hiperlipídica sobre o sistema nervoso.

8. REFERÊNCIAS

- AGIUS L. et al. Impaired lipogenesis in mammary glands of lactating rats fed on a cafeteria diet: reversal of inhibition of glucose metabolism in vitro by insulin. **Biochemical Journal**, 1980; 186:1005-08.
- ALBUQUERQUE K.T. et al. Intake of trans fatty acid-rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**, 2006; 22:820-829.
- AMÂNCIO-DOS-SANTOS A. et al. Fluoxetine inhibits cortical spreading depression in weaned and adult rats suckled under favorable and unfavorable lactation conditions. **Experimental Neurology**, 2006; 275-282.
- ANSELMO C.W.S. et al. Influence of a 60 Hz, 3 µT, electromagnetic field on the reflex maturation of wistar rats offspring from mothers fed a regional basic diet during pregnancy. **Nutritional Neuroscience** 2006; 9(5/6):201-6.
- ANSELMO C.W.S. et al. Influence of a 60 Hz 3 T, eletromagnetic fiel don the somatic maturition of wistar rat offspring fed a regional basic during pregnancy. **Brazilian Journal of Biology** 2008; 68(3):641-8
- BARROS K.M.F.T. Efeitos da desnutrição neonatal e/ou do tratamento com agonista 5-HT1A sobre o desenvolvimento sensório motor e atividade exploratória em ratos. 1999. 106 páginas. Dissertação de mestrado, Departamento de Nutrição UFPE.
- BAYOL S.A. et al. A Maternal "Junk Food" Diet in Pregnancy and Lactation Promotes Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rat Offspring. **Endocrinology**, 2010;151:1451-146.
- BRANDÃO M.C.S. **Análise morfoquantitativa do plexo mientérico do intestino delgado de ratos jovens submetidos à desnutrição protéica pré e pós-natal**. 1998. 135 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- COUTINHO J.G. et al. A desnutrição e obesidade no Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. **Cadernos de Saúde Pública**, 2008; 24(Sup 2):S332-S340.
- DAMETO M.C. et al. Effect of cafeteria diet on alpha-MG intestinal absorption in rats. **Comparative Physiology and Biochemistry**, 1994; 108: 467-470.
- DEO M.G. Cell biology of protein-calorie malnutrition. **World Review of Nutrition and Dietetics**, 1978; v. 32, p. 49-95.
- DOBBING J. The development of the blood-brain barrier. **Progress in Brain Research**, 1968; Vol. 29, pp. 417-27, ISSN 0079-6123.

DUARTE FO. Adaptações metabólicas a dois tipos de treinamento moderado de natação, contínuo e intermitente, em ratos machos adultos alimentados com dieta normocalórica e hipercalórica [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2001

DUBOVICKY' M., UJHA'ZY E., JEZOVA' D. Perinatal brain damage and neurobehavior alterations in postnatal development. **Slovakofarma Revue**, 1996; 6:46–49.

ESTADELLA, D., OYAMA, L.M., DAMASO, A.R., RIBEIRO, E.B., DO NASCIMENTO, C.M.O. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. **Basic Nutri. Invest.**, 2004; 20: 218–24.

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. **British Journal of Nutrition**, 2009; 102:514-519.

FERREIRA-DA-SILVA K. M. **Efeitos da obesidade sobre parâmetros imunológicos, hematológicos e bioquímicos em ratos endotoxêmicos**. 2010. Dissertação (Mestrado). Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, 2010.

FERREIRA S.R.G. Alimentação, nutrição e saúde: avanços e conflitos da modernidade. **Ciência e Cultura.[online]**, 2010; vol.62, n.4, pp. 31-33. ISSN 0009-6725.

FERREIRA V.A., MAGALHÃES R. Obesidade no Brasil: tendências atuais. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, 2006; 24(2): 71-78.

FILHO M.B., RISSIN A. A Transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cadernos de Saúde Pública**, 2003; 19: sup11.

FLEGAL K.M. et al. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. **Journal of the American Medical Association**, 2010; jan 20; 303 (03): 235-41.

FOX, W.M. Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. **Animal Behaviour**, 1965; Apr-Jul;13(2):234-41.

FRANCISCHI, R.P.P. et al. Obesidade: etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, 2000; 13(1): 17-28.

GIGANTE, D.P. et al. Prevalência de obesidade em adultos e seus fatores de risco. **Revista de Saúde Pública**, 1997; 31(3): 236- 246.

GIRAUDO S.Q. et al. Maternal high fat feeding and gestational dietary restriction: effects on offspring body weight, food intake and hypothalamic gene expression over three generations in mice. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, 2010.

GOODLAD R.A., WRIGHT N.A. Changes in intestinal cell proliferation, absorptive capacity and structure in young, adult and old rats. **Journal of Anatomy**, 1990; 173:109-18.

GUEDES R.C.A. et al. Citalopram has an antagonistic action on cortical spreading depression in well-nourished and early-malnourished adult rats. **Nutritional Neuroscience**, 2002; 115-123.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2010. IBGE mostra que a população brasileira está mais gorda: obesidade é mais freqüente em mulheres brasileiras, sobre peso é maior entre os homens e o peso das crianças ultrapassa padrão internacional. Disponível em: <<http://www.news.med.br/p/saude/69728/ibge-mostra-que-a-populacao-brasileira-esta-mais-gorda-obesidade-e-mais-frequente-em-mulheres-brasileiras-sobre peso-e-maior-entre-os-homens-e-o-peso-das-criancas-ultrapassa-padroao-internacional.htm>>. Acesso em: 17 jun. 2012.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed.. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KAC, G.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. A transição nutricional e a epidemiologia da obesidade na América Latina. **Cadernos de Saúde Pública**, 2003; 19(Sup. 1):S4-S5.

KANDEL, R.E., SCHWARTZ, J.H., JESSEL, T.M. Desenvolvimento do Sistema Nervoso . In: Fundamentos da Neurociência e do Comportamento. Prentice-Hall do Brasil, 1997, p. 75-92, 591p.

KONTUREK, S.J. et al. Brain–gut axis and its role in the control of food intake. **Journal of physiology and pharmacology**, 2004; 55:137–54.

MACQUEEN, H.A. et al. Deleterious effects of a cafeteria diet on the livers of nonobese rats. **Nutrition Research**, 2007; v. 27, p. 38-47.

MAHMOOD A., SHAO J., ALPERS D.H. Rat enterocytes secrete SLPs containing alkaline phosphatase and cubilin in response to corn oil feeding. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology** 2003; 285:G433-G41.

MARINHO, S.P. et al. Obesidade em adultos de segmentos pauperizados da sociedade. Revista de Nutrição, 2003;16(2):195-201.

MINISTÉRIO DA SAÚDE [Internet]. Vigilância Brasil 2011: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. [acesso 2014 fev 16]. Disponível em:
http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_brasil_2011_fatores_risco_saude_cronicas.pdf.

MONTEIRO, C.A. et al. “Shifting obesity trends in Brazil”. **European Journal of Clinical Nutrition**, 2000; 54: 342-346.

MONTEIRO C.A., CONDE W.L. A tendência secular da obesidade segundo estratos sociais: nordeste e sudeste do Brasil, 1975-1989-1997. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, 1999;** 43: 186-94.

MORGANE, P.J. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 1993;** 91-128.

MORGANE, P.J. et al. The effects of protein malnutrition on the developing nervous system in the rat. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 1978;** 137-230.

MOZES, Š. et al. Obesity and changes of alkaline phosphatase activity in the small intestine of 40- and 80-day-old rats subjected to early postnatal overfeeding or monosodium glutamate. **Physiological Research, 2004;** 53: 177-86.

MOZES, Š., ŠEFCIKOVA, Z., LENHARDT, L. Functional changes of the small intestine in over-and undernourished suckling rats support the development of obesity risk on a high-energy diet in later life. **Physiological Research, 2007;** 56: 183-92.

NATALI, M.R.M. et al. Effects of maternal protein malnutrition on the duodenal mucous layer of rats. **Brazilian Journal of Morphological Sciences, 1995;** São Paulo, v. 12, p. 71-76.

NOVELLI E.L. et al.. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals, 2007;** 41:111-9.

NUNES, M.M.A. et al. Excesso de peso, atividade física e hábitos alimentares entre adolescentes de diferentes classes econômicas em Campina Grande (PB). **Revista da Associação Médica Brasileira,2007;** 53(2): 130-4.

OBEN J.A. et al. Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. **Journal of Hepatology, 2010;** 52:913-920.

OGDEN C.L. et al. Prevalence of high body mass index in US children and adolescents, 2007-2008. **Journal of the American Medical Association, 2010;** Jan 20; 303 (03): 242-9.

OLIVEIRA et al,. A perinatal palatable high-fat diet increases food intake and promotes hypercholesterolemia in adult rats. *Lipids.* 2011; vol 5-10.

PACHÁ J. Developmental of intestinal transport function in mammals. **Physiological Reviews, 2000;** 80:1633-67.

PATRÍCIO, F.R.S.; NÓBREGA, F.J.; TONETE, S.S. Q. Desnutrição intra-uterina em diferentes períodos de gestação em ratas: estudo do intestino delgado proximal ao nascimento e durante a recuperação nutricional. **Revista Paulista de Pediatria, 1984;** v. 2, n. 8, p. 43-52.

PINHEIRO, A.R.O. et al. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. **Revista de Nutrição, 2004;** 17(4): 523-533.

PLANAS B. et al. Morphofunctional changes in gastrointestinal tract of rats due to cafeteria diet. **Revista española de fisiología, 1992;** 48: 37-43.

PLUSKE J.R., HAMPSON D.J., WILLIAMS I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science, 1997;** 51:215–36.

PRATS E. et al. Energy intake of rats fed a cafeteria diet. **Physiology & Behavior, 1989;** 45:263–272.

POPKIN B.M. et al. The nutrition transition in China: A cross sectional analysis. **European Journal of Clinical Nutrition, 1993;** 47:333-46.

POPKIN B.M., DOAK C. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. **Revista de Nutrição, 1998;** 56:106-14.1-3.

RASMUSSEN L.G. et al. Título: Effect on 24-h energy expenditure of a moderate-fat diet high in monounsaturated fatty acids compared with that of a low-fat, carbohydrate-rich diet: a 6-mo controlled dietary intervention trial. **American Journal of Clinical Nutrition, 2007;** v. 85,p. 1014-1022.

ROTHWELL N.J., STOCK M.J. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. **Nature, 1979;** 281, 31–35.

SAGHER F.A. e al. Rat small intestinal morphology and tissue regulatory peptides: effects of high dietary fat. **British Journal of Nutrition, 1991;** 65:21-8.

SARTURI, J.B. et al. Obesidade em adultos: estudo de base populacional num município de pequeno porte no Sul do Brasil em 2005. **Ciência & Saúde Coletiva, 2010;** 15(1): 105-113.

ŠEFCIKOVA Z. et al. Different functional responsibility of the small intestine to high-fat/high-energy diet determined the expression of obesity-prone and obesity-resistant phenotypes in rats. **Physiological Research, 2007** (in press).

SILVA H.J. et. al. Protocolo f meensuration to avaliation of indicators of somatic development of Wistar rats. **Int. J. Morphol. 2005;** 23: 227 – 30.

SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia en the rat. **Appetite, 2008;** v. 52, p. 34-38.

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

STEVENS C.E., HUME I.D. Comparative physiology of the vertebrate digestive system. Cambridge: **Cambridge University Press, 1995.**

STRICK P.L., MIDDLETON F.A. Anatomical evidence for cerebellar and basal ganglia involvement in higher cognitive function. **Science, 1994;** 266:458-61.

SUREDA, O. et al. Effect of cafeteria diet on intestinal absorption of palmitic acid in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry, 1995;** v. 6, p. 151-154.

TAKANO, J. Intestinal changes in protein-deficient rats. **Experimental and Molecular Pathology, 1964;** v. 3, p. 224-231.

TEIXEIRA V.P.A. et al. Princípios Básicos e Aplicações da Morfometria; Disciplina de Patologia Geral da UFTM; 2001.

TORREJAIS, M.M. et al. Effects of proteic malnutrition after breast-feeding on the morphology if the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum of rats. **Revista Unimar, Maringá, 1995;** v.17, n. 2, p. 315-327.

TROIANO R.P. et al. Overweight prevalence and trends for children and adolescents. The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1963 to 1991. **The Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine, 1995;**149:1085-91.

WALKER, C.D. Nutritional aspects modulating brain development and the responses to stress in early neonatal life. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 2005;** Vol. 29, No. 8, pp. 1249-63, ISSN 0278-5844.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight and what is the scale of the obesity problem in your country? Report of a WHO consultation on obesity. Geneva: WHO; 2006. [Citado em 2008 dez.13]. Disponível em: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/facts/obesity/en/> and <http://www.who.int/infobase/report.aspx?rid=118>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International travel and health: situation as on 1 January 2010. **World Health Organization,** 2010. ISBN 9241580453.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. “Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases”. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva: World Health Organization, 2003. [WHO Technical Report Series, 916.

YACH D., STUCKLER D., BROWNELL K.D. Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes. **Nature Medicine, 2006;** jan; 12 (1):62-6.

ZHIXIONG H.E. et al. Effects of early malnutrition on mental system, metabolic syndrome, immunity and the gastrointestinal tract. **Journal of Veterinary Medical Science, 2009;** 71(9): 1143–1150.

APÊNDICE

Apêndice A - ARTIGO ORIGINAL

Título: Repercussões de uma dieta hiperlipídica no período perinatal sobre a ontogênese dos reflexos e a morfometria intestinal de ratos.

Título abreviado: Dieta hiperlipídica, reflexos e jejuno.

Title: Effects of a high fat diet during the perinatal period on the ontogeny of reflexes and intestinal morphology of rats at weaning.

Short title: high fat diet, reflexes and jejunum.

Autores: Jacqueline Elineuza da Silva¹, Laércio Marques da Luz Neto¹, Nathália Lima Barreto Silva², Gracyelle Elizabete dos Santos², Amanda de Santana Santos², Ângela Amâncio dos Santos².

Titulação:

1 – Mestranda(o) do Programa de Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

2 – Alunas de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pernambuco.

3 – Doutora em nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco.

Filiação institucional:

1 - Departamento de nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

2 e 3 - Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

Endereço: Avenida da engenharia, s/n - Cidade Universitária, PE.

CEP: 50740-600

Telefone:(81) 2126-8530

Endereço para correspondência:

Autor: Ângela Amâncio dos Santos

E-mail: angela.asantos@yahoo.com

Endereço: Avenida da engenharia, s/n - Cidade Universitária, PE.

CEP: 50740-600

Telefone:(81) 2126-8530

RESUMO

Neste trabalho foram avaliados, durante o período perinatal, a morfometria intestinal e a ontogênese dos reflexos de ratos cujas mães foram alimentadas com uma dieta hiperlipídica. Filhotes machos, da linhagem Wistar ($n=52$), foram divididos em quatro grupos experimentais a depender da dieta materna: NN (filhotes provenientes de mães com dieta padrão durante a gestação e lactação); NH (filhotes provenientes de mães com dieta padrão na gestação e hiperlipídica no aleitamento); HH (filhotes provenientes de mães com dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação); HN (filhotes provenientes de mães com dieta hiperlipídica na gestação e padrão no aleitamento). Durante a lactação foram avaliadas a maturação das características físicas e a ontogenia reflexa. Ao final da lactação foram analisados parâmetros intestinais (peso, comprimento e morfometria). A dieta hiperlipídica durante a gestação (grupos HH e HN) provocou atraso na maturação dos reflexos, mediana 1 (valor mínimo 1 e máximo 3), e das características físicas, mediana 2 (valor mínimo 1 e máximo 3). O peso relativo do intestino foi menor nos filhotes de todos os grupos experimentais ($NH=0,11\pm0,01$; $HH=0,08\pm0,00$ e $HN=0,11\pm0,01$) em comparação ao grupo controle ($NN=0,13\pm0,01$), $P<0,05$. O comprimento relativo do intestino foi maior no grupo HN em comparação ao grupo NN ($7,94\pm0,55$ x $6,97\pm0,65$), $P<0,05$. Em relação à altura total da mucosa e tamanho da vilosidade, apenas o grupo HH apresentou valores reduzidos em comparação ao grupo NN ($5,79\pm0,44$ μm x $8,57\pm1,02$ μm e $4,52\pm0,60$ μm x $6,71 \pm 0,68$, respectivamente). A espessura das vilosidades não apresentou diferença entre os grupos. Em suma, a dieta hiperlipídica provocou consequências negativas ao desenvolvimento do sistema nervoso e quando oferecida durante a gestação e lactação, também provocou efeitos deletérios ao sistema entérico.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica; ontogênese dos reflexos; morfometria intestinal; ratos.

ABSTRACT

This study evaluated during the perinatal period, intestinal morphology and ontogeny of reflexes in rats whose mothers were fed a high fat diet. Male pups, Wistar lineage ($n = 52$), were divided into four groups depending on maternal diet: NN (pups from mothers with laboratory chow diet during pregnancy and lactation), NH (pups from mothers with laboratory chow diet during pregnancy and high-fat diet in lactation), HH (pups from mothers with high-fat diet during pregnancy and lactation), HN (pups from mothers with high-fat diet during pregnancy and laboratory chow diet in lactation). During lactation the maturation of physical characteristics and reflex ontogeny were evaluated. At the end of lactation, intestinal parameters (weight, length, and morphology) were analyzed. A high fat diet during gestation (HH and HN groups) caused delayed maturation of reflexes, median 1 (minimum 1 and maximum 3), and physical characteristics, median 2 (minimum 1 and maximum 3). The relative weight of intestine was lower in pups of all experimental groups ($NH=0.11\pm0.01$; $HH=0.08\pm0.00$ and $HN=0.11\pm0.01$) compared to the control group ($NN=0.13\pm0.01$), $P <0.05$. The relative length of intestine was greater in HN compared to the NN group ($7.94 \pm 0.55 \times 6.97 \pm 0.65$), $P <0.05$. In relation to the total height of the mucosa and villus size, only the HH group showed lower values in comparison with NN group ($5.79\pm0.44 \mu m \times 8.57\pm1.02 \mu m$ and $4.52\pm0.60 \times 6.71\pm0.68 \mu m$, respectively). The thickness of the villi showed no difference between groups. Thus, the high-fat diet caused adverse effects to the developing nervous system and when offered during pregnancy and lactation, also caused deleterious effects system to enteric.

Keywords : high fat diet; ontogeny of reflexes; intestinal morphology; mice.

INTRODUÇÃO

Aproximadamente 1 bilhão de pessoas no mundo apresentam sobrepeso ou obesidade com altos índices de prevalência em países ricos¹. Atualmente estima-se que 33,8% dos adultos americanos apresentam obesidade², enquanto que, no Brasil, dados recentes revelam que o número estimado de adultos obesos é de 15,8%³.

O aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade está relacionado ao estilo de vida sedentário e ao excesso de ingestão alimentar, podendo estar ligado ao consumo excessivo de dietas ricas em gorduras saturadas⁴.

Tem sido amplamente documentado que o impacto da má nutrição sobre o organismo parece exercer seus efeitos mais deletérios quando ocorre no início da vida. Pois este é o período que coincide com a fase de crescimento rápido do cérebro⁵. Fox⁶ estudou um espectro de reflexos correlacionando a sua consolidação com dados conhecidos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso e comportamental do camundongo. Desde então, ele demonstrou que a aplicação de testes comportamentais e neurológicos podem servir como indicador útil para identificar as etapas sequenciais de desenvolvimento normal do cérebro.

Além do sistema nervoso, o intestino também é um órgão que pode modificar o seu funcionamento quando da vigência de insultos nutricionais. Stevens & Hume⁷ afirmam que há estreita correlação entre as dimensões do tubo digestivo, o tamanho do corpo e o tipo de dieta em mamíferos em geral.

O consumo cada vez maior de dietas ricas em gordura por mulheres jovens em idade reprodutiva e o aumento na prevalência da obesidade e suas complicações, principalmente durante a gestação e lactação⁸, traz à tona o seguinte questionamento: quais seriam as consequências à saúde da prole decorrentes desse desequilíbrio nutricional na fase de desenvolvimento? Dessa forma, o presente trabalho se propõe a avaliar os efeitos de uma dieta hiperlipídica durante períodos críticos do desenvolvimento do rato, a saber, gestação e lactação, sobre a ontogênese reflexa e a morfometria intestinal da prole.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados ratos albinos, da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Todos os procedimentos experimentais descritos a seguir foram realizados

somente após análise e aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da UFPE (processo nº 23076.039142/2012-21). Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, à temperatura ambiente de $22\pm1^{\circ}\text{C}$, a um ciclo artificial claro-escuro de 12/12 horas (o escuro iniciando-se às dezenove horas) e com acesso livre à água e comida.

Aos 90-120 dias de idade, ratos machos e fêmeas primíparas foram acasaladas na proporção 1:2 ou 1:3, respectivamente, para obtenção das ninhadas. As fêmeas gestantes foram mantidas em gaiolas individuais sendo submetidas a um dos regimes alimentares descritos no item 2. Vinte e quatro horas após o parto (primeiro dia de vida, considerando-se o dia de nascimento como dia zero), os filhotes foram distribuídos aleatoriamente, em ninhadas de seis animais por mãe.

Manipulação nutricional

Os animais foram submetidos a um dos seguintes regimes alimentares:

- 1 – dieta Presence Ratos e Camundongos®, que constitui a dieta padrão do biotério (Agribrends Purina do Brasil, LTDA); ou,
- 2 – dieta hiperlipídica, que foi fornecida com o objetivo de induzir obesidade nos animais.

A dieta experimental consiste em uma mistura normoproteica e hiperlipídica adaptada de Estadella et al., 2004. É constituída por ração comercial Presence Ratos e Camundongos®, acrescida de amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1, respectivamente. Destes constituintes, a ração, o amendoim e o biscoito foram moídos em trituradores elétricos, já o chocolate foi derretido em banho-maria. Após essa primeira fase, todos os ingredientes foram misturados até formarem uma massa, que foi posteriormente deixada em estufa até secar e oferecida na forma de péletes aos animais. A dieta padrão fornecia 3,8 kcal/100g (23% de proteínas, 4% de lipídios e 63% de carboidratos) enquanto que, a dieta hiperlipídica fornecia 4,8 kcal/100g (17,93% de proteínas, 24,5% de Lipídios e 47,18% de carboidratos)¹⁰.

Grupos experimentais

Os grupos experimentais foram formados por filhotes machos e mantidos em uma das condições descritas a seguir:

1. **Grupo dieta padrão na gestação + lactação (NN)** – Os filhotes desse grupo ($n=16$) foram gerados e aleitados por fêmeas que receberam somente a dieta padrão em todo o período de experimento.

2. Grupo dieta padrão na gestação + dieta hiperlipídica na lactação (NH) –

Nesse grupo (n=11), as matrizes receberam a dieta padrão na gestação, mas passaram a consumir a dieta hiperlipídica no aleitamento.

3. Grupo dieta hiperlipídica na gestação + dieta padrão na lactação (HN) – As

matrizes consumiram durante a gestação a dieta hiperlipídica, porém durante o aleitamento passaram a se alimentar com a dieta padrão (n=12).

4. Grupo dieta hiperlipídica na gestação + lactação (HH) – As matrizes

consumiram, desde a gestação até a lactação, a dieta hiperlipídica (n = 13).

Dados da literatura trazem que os efeitos de uma dieta hiperlipídica sobre os modelos animais surgem a partir de três semanas do consumo da mesma¹¹. Diante disso, para análise da maturação do desenvolvimento reflexo e características físicas apenas dois grupos foram formados associando os grupos NN com NH e HH com HN, formando assim, o grupo controle e hiperlipídico, respectivamente.

Avaliação do consumo alimentar das mães

O consumo alimentar das ratas durante a gestação e lactação foi avaliado diariamente. Foram ofertados cerca de 50 a 60g (em pellets) e após 24 horas quantificaram-se as sobras.

Avaliação da Maturação dos Reflexos

Em cada animal foi analisada diariamente a maturação reflexa, caracterizada segundo o protocolo de Fox⁶, a partir dos seguintes testes: preensão palmar (PP), recuperação ao decúbito (RD), colocação pelas vibrissas (CV), aversão ao precipício (AP), geotaxia negativa (GN), resposta ao susto (RS) e queda livre (QL).

Os reflexos foram investigados desde o 1º dia de vida do animal até o dia de sua consolidação, das 12:00 às 14:00 horas da tarde. O reflexo é considerado consolidado quando a resposta total é observada de maneira inequívoca. O dia da maturação do reflexo foi estabelecido como o primeiro dia na sequência de três dias consecutivos de aparecimento completo da resposta reflexa esperada. As avaliações foram procedidas utilizando-se instrumentos elaborados ou existentes no laboratório.

Maturação das características físicas

Desde o primeiro dia pós-natal em diante, os filhotes foram examinados diariamente para determinar o dia em que ocorreu a maturação completa das

seguintes características físicas (tomadas como indicadores de desenvolvimento somático): abertura do pavilhão auditivo (APA); abertura do canal auditivo (ACA); erupção dos dentes incisivos superiores e inferiores (respectivamente, EIS e EII) e abertura do olho (AO);

Crescimento somático

As medidas do crescimento somático foram aferidas de acordo com Silva et al.¹². Os animais foram avaliados semanalmente nos dias 3, 9, 15 e 21, utilizando paquímetro digital, com acurácia de 0,01 mm. Foram avaliados: Comprimento da cauda (CC); eixo latero-lateral do crânio (ELLC); eixo ântero-posterior do crânio (EAPC); eixo longitudinal (EL).

Determinações Murinométricas

- **Evolução ponderal** - Os animais foram pesados (balança com sensibilidade até 0,1 g) nos dias 1, 7, 14 e 21(dia do desmame).

- **Avaliação da taxa específica de ganho de peso** - A taxa específica de ganho de peso foi realizada ao 21º dia, tendo como referencial o peso corporal do 1º dia de vida. Esta medida foi calculada pela fórmula:

Taxa específica de ganho de peso (g/Kg) = $(dM/M)/dt$, onde

dM = Ganho de peso corporal durante dt ($dt=t_2-t_1$)

M = Peso corporal do rato em t_1

- **Determinação do Índice de Massa Corporal (IMC) e Índice de Lee** - Foram avaliados os índices da composição corporal e o percentual de gordura dos animais segundo adaptação de protocolo de Novelli et al.¹³. Na idade de 21 dias foram obtidos o IMC e o índice de Lee através das equações:

IMC = peso (g)/comprimento nasoanal² (cm)²

Índice de Lee = $\sqrt[3]{\text{peso (g)}/\text{comprimento nasoanal (cm)}}$

Peso do encéfalo

Após o sacrifício, o encéfalo foi retirado e pesado em balança digital com sensibilidade até 0,1 g. O valor obtido foi utilizado para cálculo do peso relativo. Em seguida, foi colocado em estufa por 72 horas para obtenção do peso seco.

Determinações morfométricas do intestino

A análise morfométrica do intestino foi realizada ao final da lactação, entre 21° e 25° dia pós-natal, quando foram utilizados cinco filhotes dos grupos NN e NH e seis filhotes dos grupos HN e HH.

O sacrifício foi realizado através de overdose com uma mistura dos anestésicos uretana (1000 mg/kg) e alfa-cloralose (40 mg/kg). Em seguida, os órgãos abdominais foram removidos em bloco único e o intestino foi retirado por liberação do mesentério e pesado em balança digital com sensibilidade até 0,1 g. O valor obtido foi utilizado para cálculo do peso relativo. O intestino foi retificado e medido com uma régua sobre a bancada. Fragmentos do jejuno foram mergulhados em formalina a 10% tamponada, por um período de 48 horas. Todo o material foi incluído em parafina e os cortes histológicos foram obtidos com espessura de aproximadamente 5 μ m através do micrótomo (Leica); corados por Hematoxilina-Eosina (HE) e por fim montados com resina sintética (Entellan-Merck).

Imagens dos cortes histológicos transversais foram selecionadas aleatoriamente em microscópio e capturadas em microcomputador. De cada corte histológico foram selecionadas 10 vilosidades íntegras, ou seja, bem orientadas, com porção basal, medial e apical aparentes e contínuas. Após a captura, utilizando objetiva de 10X, foram medidos os seguintes parâmetros:

- **Altura da vilosidade** – traçando linha reta com o cursor do computador desde o centro da porção basal da vilosidade até o ápice;
- **Altura total da mucosa** – traçando linha reta com o cursor entre o ápice da vilosidade e o limite inferior do fundo da cripta de Lieberkühn;
- **Espessura da vilosidade** – medidas entre duas bordaduras estriadas e compreendendo a média das distâncias aferidas por retas traçadas com o cursor nas porções apical, medial e basal da vilosidade;

Para essas análises, foi utilizado um microcomputador com o programa de análise de imagens ImageLab2000. Para realização da pesquisa foi utilizado um microscópio óptico Motic BA 200 (objetiva 10X). O programa “Imaje J” foi utilizado para a mensuração.

Além das análises microscópicas, também foi avaliado o comprimento do intestino delgado, que foi medido desde o piloro até a junção íleo-cecal utilizando uma régua.

Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o programa Sigma Stat 3.5, sendo considerada a significância um valor de $P < 0,05$. A normalidade das medidas foi avaliada através do teste de Kolmogorov Smirnov. Os dados paramétricos foram analisados pela análise de variância (ANOVA) para comparações múltiplas entre os grupos. Quando detectada diferença entre os grupos, utilizou-se o pós-teste de Tukey. Para dados não paramétricos se utilizou o teste de Mann-Whitney para duas amostras independentes.

RESULTADOS

Consumo alimentar materno

O consumo alimentar materno foi avaliado durante o período experimental. A média do consumo alimentar diário das ratas que consumiram a dieta padrão foi de $21,84g \pm 0,74g$ durante a gestação e $45,88g \pm 1,81g$ durante a lactação. As ratas hiperlipídicas, por sua vez, apresentaram um consumo médio de $14,26g \pm 2,22g$ e $27,18g \pm 0,94g$ durante a gestação e lactação, respectivamente. A análise em termos de calorias e macronutrientes estão descritas na tabela 1.

[Tabela 1 – página 52]

Desenvolvimento reflexo

Os grupos cujas mães receberam dieta hiperlipídica durante a gestação (HH e HN) apresentaram atraso ($p<0,05$) à maturação de todos os reflexos, quando comparados ao grupo controle (NN). O dia da consolidação dos reflexos para os grupos controle e hiperlipídico estão mostrados na tabela 2.

Características físicas

Resultado semelhante pode ser observado em relação à maturação das características físicas. A dieta hiperlipídica administrada durante a gestação (grupos HH e HN) provocou atraso ($P<0,001$) no desenvolvimento de todos os parâmetros somáticos, quando comparado ao grupo controle (tabela 2).

[Tabela 2 – página 52]

Desenvolvimento somático

Quanto ao comprimento da cauda, não houve diferença significativa entre os animais do grupo NH e do grupo controle. O grupo HH apresentou comprimento da cauda menor do que o grupo controle durante toda a lactação. O grupo HN apresentou, inicialmente, um comprimento inferior; mas, ao final da lactação, ele estava superior ao do grupo controle (figura 1).

Em relação ao ELLC, o grupo NH apresentou valor inferior ao do controle apenas ao final da lactação (dia do desmame). Os grupos HH e HN apresentaram ELLC inferior ao do grupo controle no início da lactação. Ao final desse período, essa redução permaneceu apenas no grupo HH. Interessantemente, o grupo HN passou a apresentar valor superior ao do grupo controle a partir do 9º dia de lactação (figura 2).

Referente ao EAPC, não houve diferença entre os grupos experimentais e o grupo controle no início da lactação. Contudo, ao desmame, todos os grupos experimentais apresentaram EAPC menor do que o do grupo controle (figura 3).

[Figuras 1, 2 e 3 – página 54]

Quanto ao EL, o grupo NH apresentou medida inferior à do grupo controle a partir do 14º dia de lactação. Para o grupo HH, os valores eram menores do que aqueles do grupo controle durante toda a lactação. Em relação ao grupo HN, o EL estava reduzido até o 15º dia de lactação; porém, ao desmame, seu valor era superior ao dos animais do grupo controle (figura 4).

[Figura 4 – página 55]

Parâmetros murinométricos

O grupo NH apresentou peso corporal semelhante ao do grupo controle no início da lactação. No entanto, a partir do 14º dia, esse peso se tornou inferior. Durante toda a lactação, os filhotes do grupo HH apresentaram peso inferior ao do grupo controle. Os animais do grupo HN, por sua vez, apresentaram peso corporal inferior ao do grupo controle até o 14º dia de lactação. Entretanto, ao final desse período, o peso corporal desses animais era superior (figura 5).

[Figura 5 – página 55]

Concernente à taxa específica de ganho de peso e ao IMC, ambos apresentaram valores inferiores ao do grupo controle nos grupos NH e HH, ao final da lactação. Para o grupo HN, a taxa específica estava maior que a do grupo controle ao desmame e o IMC não diferiu. Em relação ao índice de Lee, apenas o grupo HH apresentou valor reduzido em comparação ao grupo controle (tabela 3).

[Tabela 3 – página 53]

Avaliações post mortem

O peso úmido do encéfalo não apresentou diferença entre os grupos quando analisados os valores absolutos. No entanto, a análise dos valores relativos mostrou que o peso encefálico nos grupos NH e HH foi maior. Quando avaliado o peso seco do encéfalo, apenas o grupo HH apresentou valor reduzido em comparação ao grupo controle (tabela 4).

Em relação ao peso absoluto do intestino, os grupos NH e HH apresentaram valores inferiores ao grupo controle. Quando avaliado o peso relativo do intestino, os três grupos experimentais apresentaram peso menor do que o do grupo controle. Quanto ao comprimento do intestino, apenas o grupo HN apresentou média superior ao grupo controle, tanto em valor absoluto quanto relativo (tabela 4).

Em relação aos parâmetros morfométricos do intestino, apenas o grupo HH apresentou valores reduzidos da altura total da mucosa e do tamanho da vilosidade em comparação ao grupo NN. A espessura das vilosidades não apresentou diferença entre os grupos (tabela 5).

[Tabelas 4 e 5 – página 53]

DISCUSSÃO

A gestação e a lactação constituem fases da vida nas quais o sistema nervoso dos seres em desenvolvimento está grandemente vulnerável a insultos ambientais. Injúrias nutricionais ocorridas nesses períodos podem alterar a estrutura e a função cerebral, o que pode ser evidenciado através da ontogenia inadequada das respostas reflexas¹⁴.

No presente estudo foi encontrado que tanto a maturação das características físicas, quanto a consolidação da resposta reflexa, apresentaram-se retardadas naqueles grupos cujas mães receberam a dieta hiperlipídica na gestação. Resultado

semelhante foi observado no estudo de Giriko *et al.*¹⁵. Naquele trabalho, todos os indicadores de maturação física foram estabelecidos mais tarde nos descendentes de mães que receberam a dieta hiperlipídica. Além disso, a consolidação dos reflexos de colocação pelas vibrissas, resposta ao susto, endireitamento em queda livre e geotaxia negativa também estavam atrasados.

O sistema nervoso é o órgão com a segunda maior concentração de lipídios, sendo ultrapassado apenas pelo tecido adiposo. Aproximadamente 35% desses lipídios são ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, como os ácidos araquidônico (AA) e docosahexaenoico (DHA), das séries w-6 e w-3, os quais desempenham papel essencial no desenvolvimento e função do cérebro¹⁶.

Para assegurar um crescimento e um desenvolvimento adequados, a dieta prescinde da presença destes ácidos graxos, cujo maior aporte ocorre principalmente durante o período de maior crescimento cerebral¹⁷. Tem sido demonstrada a necessidade de DHA na formação do cérebro do feto e do recém-nascido¹⁸. As concentrações cerebrais desse ácido interfere no desempenho cognitivo na infância, bem como no declínio cognitivo ou demência com o avanço da idade¹⁸.

Estudos têm demonstrado que ratos alimentados com dietas deficientes em ácido linolênico (w-3) apresentam redução na capacidade de aprendizagem¹⁹; menor crescimento de neuritos em neurônios hipocampais²⁰; decréscimo no tamanho dos corpos celulares de neurônios em várias regiões encefálicas²¹; alteração na arborização dendrítica²². Além disso, a ingestão de dieta deficiente em ácidos graxos essenciais pode retardar o desenvolvimento de alguns reflexos neurológicos²³.

Borba *et al.*²⁴ mostraram que o tipo de ácido graxo presente na dieta interfere com o desenvolvimento do sistema nervoso. Pois, animais alimentados com dieta cuja base lipídica era a gordura vegetal hidrogenada, rica em ácidos graxos saturados, apresentaram atraso para abertura do canal auditivo e para o reflexo de geotaxia negativa, quando comparados com os animais do grupo controle, cuja fonte lipídica da dieta era o óleo de soja, rico em ácidos graxos poliinsaturados. Dessa forma, a ingestão suficiente de gorduras poliinsaturadas durante a infância é imprescindível para o crescimento ideal e o desenvolvimento adequado das funções orgânicas²⁵.

A dieta experimental utilizada em nossa pesquisa é baseada na dieta descrita por Estadella *et al.*⁹. Ela é constituída pela própria ração usada no biotério para a alimentação padrão dos animais, acrescida dos seguintes ingredientes biscoito de amido, amendoim torrado e chocolate ao leite. Ao final, têm-se uma dieta hiperlipídica, porém deficiente em ácidos graxos essenciais. Assim, é possível que o atraso na

maturação das características físicas e da consolidação das respostas reflexas, encontrado no presente estudo, seja decorrente dessa inadequação alimentar.

Outra hipótese que poderia ser aventada para explicar para os resultados encontrados se baseia na deficiência proteica. Pois, neste estudo também se observou que o consumo proteico das ratas da dieta hiperlipídica foi de 51% e 46,2% durante a gestação e a lactação, respectivamente.

O estudo clássico de Smart & Dobbing²⁶ demonstra claramente que a desnutrição impõe nos períodos pré e/ou pós-natal ocasiona retardo na maturação reflexa. Mais recentemente, outros trabalhos têm reforçado que uma dieta pobre em proteína no período de gestação e lactação induz alterações permanentes na estrutura e na funcionalidade do sistema nervoso central, como o atraso na ontogênese dos reflexos^{27,28}.

Com relação aos parâmetros de crescimento somático (CC, ELLC, EAPC, EL e peso corporal), foi visto que a ingestão materna de dieta hiperlipídica durante a lactação (grupos NH e HH) resultou em redução, ao desmame, de praticamente todos os aspectos analisados (exceto o CC no grupo NH). No entanto, apesar de o grupo HN ter iniciado o período de lactação com valores inferiores, ao desmame, todos os parâmetros se mostraram superiores (exceto EAPC), em relação ao grupo NN.

Contrariamente aos nossos resultados, outras investigações nas quais a dieta hiperlipídica era oferecida às nutrizes também durante a gestação e/ou lactação, os filhotes apresentaram peso corporal e medidas de crescimento superiores^{29,30}. Em outros ainda, não houve diferença significativa nesses mesmos parâmetros^{31,32}. Diante do exposto, percebe-se que ainda não estão bem estabelecidos os efeitos que a dieta hiperlipídica pode exercer sobre o crescimento somático, sobretudo, quando oferecida durante o período crítico de desenvolvimento, uma vez que os estudos encontrados na literatura são contraditórios.

Conforme mencionado anteriormente, o consumo alimentar estava reduzido quando a dieta hiperlipídica era oferecida. Consequentemente, houve também uma redução significativa na ingestão de proteínas. Essa desnutrição proteica poderia ser a responsável pelo déficit de desenvolvimento dos filhotes NH e HH. O grupo HH por ter sofrido uma restrição proteica desde a gestação, teria apresentado consequências negativas mais intensas em comparação ao grupo NH, cuja carência proteica se deu apenas durante o período de lactação.

As medidas das dimensões dos eixos cranianos, ELLC e EAPC, se relacionam ao crescimento e desenvolvimento do crânio e indiretamente ao desenvolvimento do SNC³³. O ELLC é responsável pelo crescimento e desenvolvimento da caixa craniana

(região do neurocrânio), enquanto que o EAPC está diretamente relacionado com as funções de erupção dos dentes e mastigação, sendo denominado de região do vicerocrânio³³. Nesse sentido, Miller e German³³ encontraram maior comprometimento do viscerocrânio em relação ao neurocrânio em ratos submetidos à desnutrição proteica. Nossos resultados corroboram com estes autores, uma vez que identificamos comprometimento do EAPC em todos os grupos experimentais enquanto que o ELLC foi comprometido apenas nos animais que sofreram déficit proteico na lactação.

Por outro lado, é interessante observar que o ganho de peso corporal no grupo HN, cujas mães apresentaram consumo proteico reduzido durante a gestação, foi maior em comparação ao grupo NN. Nesses filhotes pode ter acontecido o fenômeno conhecido como *catch up* de crescimento, no qual o organismo compensa uma taxa lenta de crescimento por déficit de proteínas na dieta durante os períodos iniciais da vida³⁴.

Em relação à TEGP e IMC, foi encontrado redução desses parâmetros nos grupos NH e HH. Isso ocorreu devido ao déficit ponderal observado nos filhotes desses grupos que refletiu diretamente em valores reduzidos de TEGP e IMC, ao passo que, o grupo HN, por ter apresentado maior ganho de peso corporal, obteve a maior TEGP.

Concernente ao índice de Lee, alguns estudos têm demonstrado uma relação direta entre dieta hiperlipídica e aumento desse parâmetro, revelando índices maiores de adiposidade^{35,36}. Contrariamente à literatura, nossos achados mostraram que o grupo que recebeu a dieta hiperlipídica durante todo o período experimental (grupo HH), foi o que obteve menor índice de Lee em relação ao grupo controle. É importante salientar, que os estudos citados acima, aferiram o Índice de Lee nos animais aos 40-90 dias de idade. Essa diferença metodológica dificulta a comparação entre os dois estudos; pois, em nosso caso, a avaliação foi efetuada imediatamente após o desmame. Quanto ao grupo HH, este foi o que sofreu a maior restrição nutricional de proteínas. Isto resultou em menor peso corporal e consequente redução no índice de Lee, uma vez que tal parâmetro é baseado no peso do animal.

No que diz respeito ao peso dos órgãos, foi proposto por Hales & Barker³⁷ a teoria do “fenótipo econômico”. Segundo esses autores, o desenvolvimento fetal é sensível ao ambiente nutricional. Quando este é precário, desencadeia-se uma resposta adaptativa para aperfeiçoar o crescimento de órgãos como o cérebro; em detrimento de outros, como as vísceras. Nossos achados indicam confirmar essa teoria, uma vez que, o peso relativo do encéfalo foi superior nos grupos NH e HH, enquanto que o peso relativo do intestino foi inferior nas três condições experimentais.

O intestino delgado, assim como outros tecidos do organismo, sofre alterações estruturais e funcionais durante o desenvolvimento. À medida que a idade avança, essas alterações poderão ser potencializadas ou reduzidas a depender das influências do ambiente externo³⁸.

Planas *et al.*³⁹ analisando as alterações morfológicas no trato gastrintestinal de ratos submetidos a uma dieta hiperlipídica, verificaram que a ingestão dessa dieta provocou um aumento significativo no comprimento do intestino delgado dos animais após 21 dias de vida. O estudo de Scoares *et al.*⁴⁰ também identificou aumento no comprimento do intestino em animais que receberam a dieta hiperlipídica. Hounnou *et al.*⁴¹, em 2002, conclui que o tamanho do intestino está correlacionado com o peso, e não com a altura do indivíduo. De fato, nossos resultados mostram que o comprimento do intestino foi superior no grupo HN que obteve o maior peso corporal ao desmame.

Em relação aos parâmetros morfométricos do intestino, houve redução na altura total da mucosa e na altura das vilosidades apenas nos filhotes que sofreram influência da dieta hiperlipídica desde a gestação (grupo HH). Contrariamente, outros estudos que submeteram ratos a dieta hiperlipídica encontraram aumento dos mesmos parâmetros intestinais que foram analisados aqui.

Sagher *et al.*⁴² encontraram aumento na altura das vilosidades e profundidade das criptas nos animais que receberam uma dieta com 40% da energia proveniente de fontes lipídicas. Goda & Takase⁴³ verificaram aumento nas vilosidades do jejuno, no peso e no conteúdo proteico da mucosa de ratos em resposta a uma dieta com alto teor lipídico (70%), o que provavelmente resultou em aumento da superfície de digestão e absorção. Estornell *et al.*⁴⁴ demonstraram que a exposição de ratos e camundongos a uma dieta de alto teor de gordura, durante 30 dias, promoveu obesidade associada à hipertrofia da mucosa intestinal. Mais recentemente, Scoaris *et al.*⁴⁰, avaliando parâmetros da morfometria intestinal do jejuno de ratos submetidos a uma dieta hiperlipídica, encontraram que a altura das vilosidades, a profundidade das criptas e a espessura total da parede foram maiores no grupo que consumiram a dieta hiperlipídica em comparação ao grupo controle.

Entretanto, como pode ser notado, a maioria dos trabalhos mencionados acima utilizaram teores lipídicos em suas dietas experimentais superiores àquele usado em nosso trabalho (24,5%)^{42,43,44}. Ou ainda, um período de exposição a essa dieta superior ao que foi mantido às nossas ratas (Sagher *et al.*⁴²). Ambos esses fatores talvez possam explicar as divergências nos resultados encontrados. Ademais, a ideia de que a dieta hiperlipídica utilizada em nosso trabalho possa ter provocado desnutrição proteica nos animais tem sido adicionalmente reforçada.

Segundo Deo⁴⁵, a desnutrição proteica pode causar alterações celulares em diversos tecidos. Os primeiros a sofrerem pela falta de proteínas são aqueles de alta renovação celular, como a mucosa intestinal. Diante disso, a redução na ingestão proteica do grupo HH, tanto na gestação quanto na lactação, poderia justificar nossos achados. De fato, a alteração morfológica causada pela desnutrição tem sido extensivamente estudada no intestino delgado, especialmente durante os períodos críticos de desenvolvimento⁴⁶. Nesse sentido, estudos relataram reduções morfológicas e morfométricas nas camadas intestinais causadas por deficiência protéica^{47,48}.

Com base nos dados apresentados, pode-se concluir que a dieta hiperlipídica, oferecida durante a gestação e/ou lactação, provocou consequências negativas ao desenvolvimento do sistema nervoso e entérico. Porém, mais estudos são necessários a fim de se esclarecer a influência isolada do excesso de lipídios, uma vez que, a deficiência proteica encontrada no presente estudo parece ter exercido forte influência nos resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

1. Yach D, Stuckler D, Brownell KD. Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes. *Nature medicine*, 2006; jan; 12 (1):62-6. doi:10.1038/nm0106-62
2. Flegal KM , Carroll MD , Ogden CL , Curtin LR . Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. *JAMA*, 2010; jan 20; 303 (03): 235-41. doi: 10.1001/jama.2009.2014. Epub 2010 Jan 13.
3. Ministério da saúde [Internet]. Vigilância Brasil 2011: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. [acesso 2014 fev 16]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilante_brasil_2011_fatores_risco_doenca_cronica.pdf.
4. Rasmussen LG , Larsen TM , Mortensen PK , Devidio A , Astrup A. Effect on 24-h energy expenditure of a moderate-fat diet high in monounsaturated fatty acids compared with that of a low-fat, carbohydrate-rich diet: a 6-mo controlled dietary intervention trial. *Am J Clin Nutr*, 2007; v. 85,p. 1014-1022.
5. Morgane, PJ, Miller M, Kemper T, Stern W, Forbes W, Hall R *et al*. The effects of protein malnutrition on the developing nervous system in the rat. *Neurosci Biobehav Rev*, 1978; 137-230. [http://dx.doi.org/10.1016/0149-7634\(78\)90059-3](http://dx.doi.org/10.1016/0149-7634(78)90059-3).
6. Fox, WM. Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. *Anim Behav*, 1965; Apr-Jul;13(2):234-41. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-3472\(65\)90041-2](http://dx.doi.org/10.1016/0003-3472(65)90041-2)
7. Stevens CE, Hume ID. Comparative physiology of the vertebrate digestive system. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.
8. Oben JA, Mouralidaran A, Samuelsson AM, Matthews PJ, Morgan ML, McKee C, *et al*. Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. *J Hepatol*, 2010; 52:913-920. doi: 10.1016/j.jhep.2009.12.042. Epub 2010 Apr 1.
9. Estadella, D, Oyama, LM, Damaso, AR, Ribeiro, EB, Do Nascimento, CMO. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. *Basic Nutri. Invest.*, 2004; 20: 218 –24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2003.10.008>.
10. Ferreira SRG. Alimentação, nutrição e saúde: avanços e conflitos da modernidade. *Ciênc Cult [online]*, 2010; vol.62, n.4, pp. 31-33. ISSN 0009-6725.

11. Duarte FO. Adaptações metabólicas a dois tipos de treinamento moderado de natação, contínuo e intermitente, em ratos machos adultos alimentados com dieta normocalórica e hipercalórica [mestrado]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2001.
12. Silva HJ, Marinho SMOC, Silva AETM, Albuquerque CG, Moraes SRA, Manhães de Castro R. . Protocolo f meensuration to avaliation of indicators of somatic development of Wistar rats. Int. J. Morphl. 2005; 23: 227 – 30.
13. Novelli EL, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Mani F *et al.* Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. Lab Anim, 2007; 41:111–9. doi: 10.1258/002367707779399518.
14. Soares AKF, Guerra RGS, Castro ML, Amancio-dos-Santos A, Guedes RCA, Cabral-Filho JE, *et al.* Somatic and reflex development in suckling rats: effects of mother treatment with ketogenic diet associated with lack of protein. Nutr Neurosci. 2013. doi: [10.1179/147683009X423427](https://doi.org/10.1179/147683009X423427).
15. Giriko CA, Andreoli CA, Mennitti LV, Hosoume LF, Souto TdS, Silva AVd, *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 vol. 31 issue 8 December, 2013. p. 731-739. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2013.09.001. ISSN: 0736-5748.
16. Vaisman N, Kaysar N, Zaruk-Adasha Y, Pelled D, Brichon G, Zwingelstein G, *et al.* Correlation between changes in blood fatty acid composition and visual sustained attention performance in children with inattention: effect of dietary n-3 fatty acids containing phospholipids. Am J Clin Nutr. 2008; 87:1170-80.
17. Bourre JM. Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: update on dietary requirements for brain. Part 2: macronutrients. J Nutr Health Aging 2006.
18. Uauy R, Dangour A. Nutrition in Brain Development and Aging: Role of the Essential Fatty Acids. Nutr Rev. 2006; 64 no. 5:S24-S33.
19. Saste DM, Carver JD, Stockard JE, Benford VJ, Chen LIT, Phelps CP. Maternal diet fatty acid composition affects neurodevelopment in rat pups. J Nutr 1998; 128(4):740-743.
20. Calderon F; Kim HY. Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons J Neurochem 2004; 90(4):979-88.
21. Ahmad A, Mrthy M, Greiner RS, Moriguchi T, Salem NJR. A decrease in cell size accompanies a loss of docosahexaenoate in the rat hippocampus. Nutr Neurosc 2002; 2:103-13.

22. Wainwright P. Dietary essential fatty acids and brain function: a developmental perspective on mechanisms. *Proc Nutr Soc* 2002; 61:61-69.
23. Dijck-Brouwer DA, Haddes-Algra M, Bouwstra H, Desci T, Boehm G, Martini IA, et al. Lower fetal status of docosahexaenoic acid, arachidonic acid and essential fatty acids is associated with less favorable neonatal neurological condition. *Prostagl Leukotri Ensl Fatty Acids* 2005; 72(1): 21-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plefa.2004.08.002>.
24. Borba JMC, Silva MSP, Melo APR. Lipids, Nutrition and Development. Recent Trends for Enhancing the Diversity and Quality of Soybean Products, 2011; ISBN: 978-953-307-533-4, InTech, doi: 10.5772/19759.
25. Fernández LC, Serra JD, Álvarez JR, Alberich RS, Jiménez FP.. Dietary fats and cardiovascular health. *Aten Primaria*. 2011 Mar;43(3):157.e1-16. doi: 10.1016/j.aprim.2010.12.003.
26. Smart, JL, Dobbing J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. *Brain Res*, 1971; 28(1): 85-95. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90526-9](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(71)90526-9).
27. Barros KM, Manhães-De-Castro R, Lopes-De-Souza S, Matos RJ, Deiró TC, Cabral-Filho JE, et al. A regional model (Northeastern Brazil) of induced malnutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. *Nutr Neurosci*, 2006; 9: 99–104. doi: 10.1080/10284150600772148.
28. Falcão-Tebas F, Bento-Santos A, Fidalgo MA, de Almeida MB, dos Santos JA, Lopes de Souza S, et al. Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. *Br J Nutr*. 2012; 107(3):372-7. doi: 10.1017/S0007114511002947.
29. Bouanane S, Merzouk H, Benkalfat NB, Soulimane N, Merzouk SA, Gresti J, et al. Hepatic and very low-density lipoprotein fatty acids in obese offspring of overfed dams. *Metabolism*, 2010; Dec;59(12):1701-9. doi: 10.1016/j.metabol.2010.04.003.
30. Gregório BM, Souza-Mello V, Carvalho JJ, Mandarim-De-Lacerda CA, Aguila MB. Maternal high-fat intake predisposes nonalcoholic fatty liver disease in C57BL/6 offspring. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 Nov;203(5):495.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2010.06.042.
31. Pisani LP, Oyama LM, Bueno AA, Biz C, Albuquerque KT, Ribeiro EB, et al. Hydrogenated fat intake during pregnancy and lactation modifies serum lipid

- profile and adipokine mRNA in 21-day-old rats. Nutrition, 2008; Mar;24(3):255-61. doi: 10.1016/j.nut.2007.12.001.
32. Macqueen HA, Sadler DA, Moore SA, Daya S, Brown JY, Shuker DEG, et al. Deleterious effects of a cafeteria diet on the livers of nonobese rats. Nutr Res, 2007; 27:38-47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2006.10.003>.
33. Miller JP; German RZ. Protein Malnutrition Affects the Growth Trajectories of the Craniofacial Skeleton in Rats. Journal of Nutrition. 1999;129:2061-2069.
34. Barker DJ, Eriksson JG, Forsen T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. Int J Epidemiol 2002;31:1235-9. doi: 10.1093/ije/31.6.1235.
35. Santos ACA, Lopes ACT, Cruz GCX, Garcia BC, Kodama FY, Camargo RCT, et al. Estudo biométrico de ratos alimentados com dois tipos de dieta. Colloquium Vitae, 2010; vol. 2, n. Especial, p 119-126, 2010. Doi: 10.5747/cv.2010.v02.n2.
36. Mali PY, Bigoniya P, Panchal SS, Muchhandi IS. Anti-obesity activity of chloroform-methanol extract of Premna integrifolia in mice fed with cafeteria diet. J Pharm Bioallied Sci. 2013 Jul;5(3):229-36. doi: 10.4103/0975-7406.116825.
37. Hales CN, Barker DJP. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. Diabetologia. 35: 595-601,1992.
38. Pachá J. Developmental of intestinal transport function in mammals. Physiol Rev, 2000; 80:1633-67.
39. Planas B, Pons S, Nicolau MC, López-García JA, Rial R. Morphofunctional changes in gastrointestinal tract of rats due to cafeteria diet. Rev Esp Fisiol. 1992 Mar;48(1):37-43.
40. Scoaris CR, Rizo GV, Roldi LP, De Moraes SMF, De Proença ARG, Peralta RM, et al. Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. Nutrition. 2010 Mar;26(3):312-20. doi: 10.1016/j.nut.2009.04.012.
41. Hounou G, Destrieux C, Desme J, Bertrand P, Velut S. Anatomical study of the length of the human intestine. Surg Radiol Anat 2002;24:290-4. Doi: 10.1007/s00276-002-0057-y.
42. Sagher FA, Dodge JA, Johnston CF, Shaw C, Buchanan KD, Carr KE. Rat small intestinal morphology and tissue regulatory peptides: effects of high dietary fat. Br J Nutr, 1991; 65:21-8. doi: <http://dx.doi.org/10.1079/BJN19910062>.

43. Goda T, Takase S. Effect of dietary fat content on microvillus in rat jejunum. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1994 Apr;40(2):127-36.
44. Estornell E, Cabo J, Barber T. Protein synthesis is stimulated in nutritionally obese rats. *J Nutr*. 1995 May;125(5):1309-15.
45. Deo MG. Cell biology of protein-calorie malnutrition. *World Rev Nutr Diet*. 1978;32:49-95.
46. Rodrigues MA, de Camargo JL, Coelho KI, Montenegro MR, Angeline AY, Burini RC. Morphometric study of the small intestinal in young, adult, and old rats submitted to protein deficiency and rehabilitation. *Gut*. 1985 Aug;26(8):816-21.
47. Torrejais MM, Natali MRM, Conegero CI, Miranda-Neto MH. Effects of proteic malnutrition after breast-feeding on the morphology if the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum of rats. *Rev Unimar*, 1995; 17:315-327.
48. Brandão MCS. Análise morfoquantitativa do plexo mientérico do intestino delgado de ratos jovens submetidos à desnutrição protéica pré e pós-natal. 1998. f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998. 135p.

TABELAS

Tabela 1 – Consumo alimentar diário das mães durante gestação e lactação sob regime alimentar padrão e hiperlipídico.

| | Gestação | | | | Lactação | | | |
|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|-----------------|
| | NN (n=1) | NH (n=1) | HH (n=2) | HN (n=2) | NN (n=3) | NH (n=2) | HH (n=2) | HN (n=2) |
| Consumo (g) | 22,37 ±4,66 | 21,31 ±4,13 | 12,68 ±2,94 | 15,83 ±2,79 | 44,59 ± 15,11 | 27,84 ±5,96 | 26,51 ±7,52 | 47,16 ±17,06 |
| Kcal | 85,0 | 80,98 | 60,86 | 75,98 | 169,44 | 133,63 | 127,25 | 179,21 |
| Proteínas (g) | 5,14 | 4,90 | 2,27 | 2,84 | 10,25 | 4,99 | 4,75 | 10,85 |
| Lipídios (g) | 0,89 | 0,85 | 3,11 | 3,88 | 1,78 | 6,82 | 6,49 | 1,89 |
| Carboidratos (g) | 14,09 | 13,42 | 5,98 | 7,47 | 28,09 | 13,13 | 12,51 | 29,71 |

Valores de consumo expressos em media ± dp.

Tabela 2 – Dia da maturação dos reflexos e características físicas dos filhotes durante a lactação.

| | Dietas | | <i>P</i> |
|--------------------------------|---------------|----------------------|----------|
| | Padrão [n=27] | Hiperlipídica [n=25] | |
| Reflexos | | | |
| PP | 5 (4,25-7) | 8 (8-9)* | <0,001 |
| RD | 3 (2,25-4) | 5 (3-5,25)* | =0,014 |
| AP | 10 (6-11) | 11 (8-13)* | =0,044 |
| CV | 11 (10-12) | 12 (11-13)* | =0,019 |
| QL | 12 (11-13) | 13 (13-14)* | <0,001 |
| GN | 12 (10-12,5) | 13 (12-14)* | <0,001 |
| RS | 11 (10-12) | 13 (12-13)* | <0,001 |
| Características físicas | | | |
| APA | 2 (2-2,75) | 3 (3-4)* | <0,001 |
| ACA | 12 (11-12) | 13 (13-14)* | <0,001 |
| EIS | 9 (9-9) | 11 (10-11)* | <0,001 |
| EII | 9 (9-11) | 12 (12-13)* | <0,001 |
| AO | 14 (12,25-14) | 16 (15-16)* | <0,001 |

Valores expressos em mediana com os respectivos percentis de 25% e 75% apresentados entre parênteses. Reflexos: PP= Prensão palmar; RD= Recuperação ao decúbito; AP= Aversão ao precipício; CV= Colocação pelas vibrissas; GN= Geotaxia negativa; RS= Resposta ao susto; QL= Recuperação em queda livre. Características físicas: APA= Abertura do pavilhão auditivo; ACA= Abertura do conduto auditivo; EIS= Erupção do incisivo superior; EII= Erupção do incisivo inferior; AO= Abertura do olho. * Indica diferença significativa entre os grupos (teste de Mann-Whitney).

Tabela 3 – Parâmetros murinométricos dos filhotes ao final da lactação.

| | NN (n=16) | NH (n=11) | HH (n=13) | HN (n=12) |
|---|-------------|--------------|--------------|--------------|
| TEGP (g/kg) | 0,27 ± 0,03 | 0,19 ± 0,04* | 0,22 ± 0,03* | 0,43 ± 0,03* |
| IMC (g/cm²) | 0,38 ± 0,02 | 0,32 ± 0,02* | 0,29 ± 0,02* | 0,38 ± 0,02 |
| Índice de Lee (g^{1/3}/cm) | 0,32 ± 0,01 | 0,31 ± 0,01 | 0,30 ± 0,01* | 0,31 ± 0,01 |

TEGP= Taxa específica de ganho de peso; IMC= Índice de massa corporal; NN =dieta padrão durante a gestação e lactação; NH= dieta padrão durante a gestação e hiperlipídica na lactação; HH= dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação; HN= dieta hiperlipídica durante a gestação e padrão na lactação. Valores expressos em média ± dp. Teste one way ANOVA, post teste Tukey, compararam cada condição experimental, NH, HH ou HN com a controle NN (*P<0,05)

Tabela 4 – Peso encefálico e peso e comprimento do intestino dos filhotes ao desmame.

| | NN (n=10) | NH (n=11) | HH (n=9) | HN (n=8) |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Parâmetros encefálicos | | | | |
| Peso úmido (g) | 1,23 ± 0,19 | 1,31 ± 0,06 | 1,24 ± 0,05 | 1,32 ± 0,13 |
| Peso seco (g) | 0,27 ± 0,02 | 0,25 ± 0,01 | 0,24 ± 0,02* | 0,28 ± 0,02 |
| Peso relativo | 0,03 ± 0,00 | 0,04 ± 0,00* | 0,04 ± 0,00* | 0,03 ± 0,00 |
| Parâmetros intestinais | | | | |
| Peso (g) | 6,06 ± 0,68 | 3,93 ± 0,72* | 2,61 ± 0,28* | 5,54 ± 0,47 |
| Peso relativo | 0,13 ± 0,01 | 0,11 ± 0,01* | 0,08 ± 0,00* | 0,11 ± 0,01* |
| Comprimento (cm) | 78,01 ± 7,85 | 76,65 ± 9,19 | 70,28 ± 2,56 | 96,0 ± 7,22* |
| Comprimento relativo | 6,97 ± 0,65 | 7,20 ± 0,76 | 6,72 ± 0,22 | 7,94 ± 0,55* |

NN =dieta padrão durante a gestação e lactação; NH= dieta padrão durante a gestação e hiperlipídica na lactação; HH= dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação; HN= dieta hiperlipídica durante a gestação e padrão na lactação. Valores expressos em média ± dp. Teste one way ANOVA, post teste Tukey, compararam cada condição experimental, NH, HH ou HN com a controle NN (*P<0,05).

Tabela 5 – Parâmetros morfométricos do intestino de ratos ao desmame.

| | NN (n=5) | NH (n=5) | HH (n=6) | HN (n=6) |
|-------------------------------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
| Altura total da mucosa (µm) | 8,57 ± 1,02 | 7,14 ± 1,41 | 5,79 ± 0,44* | 8,30 ± 0,53 |
| Altura da vilosidade (µm) | 6,71 ± 0,68 | 5,71 ± 1,02 | 4,52 ± 0,60* | 6,70 ± 0,58 |
| Espessura da vilosidade (µm) | 2,29 ± 0,31 | 2,37 ± 0,34 | 2,34 ± 0,26 | 2,76 ± 0,24 |

NN =dieta padrão durante a gestação e lactação; NH= dieta padrão durante a gestação e hiperlipídica na lactação; HH= dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação; HN= dieta hiperlipídica durante a gestação e padrão na lactação. Valores expressos em média ± dp. Teste one way ANOVA, post teste Tukey, compararam cada condição experimental, NH, HH ou HN com a controle NN (* P<0,05).

FIGURAS

Figura 1

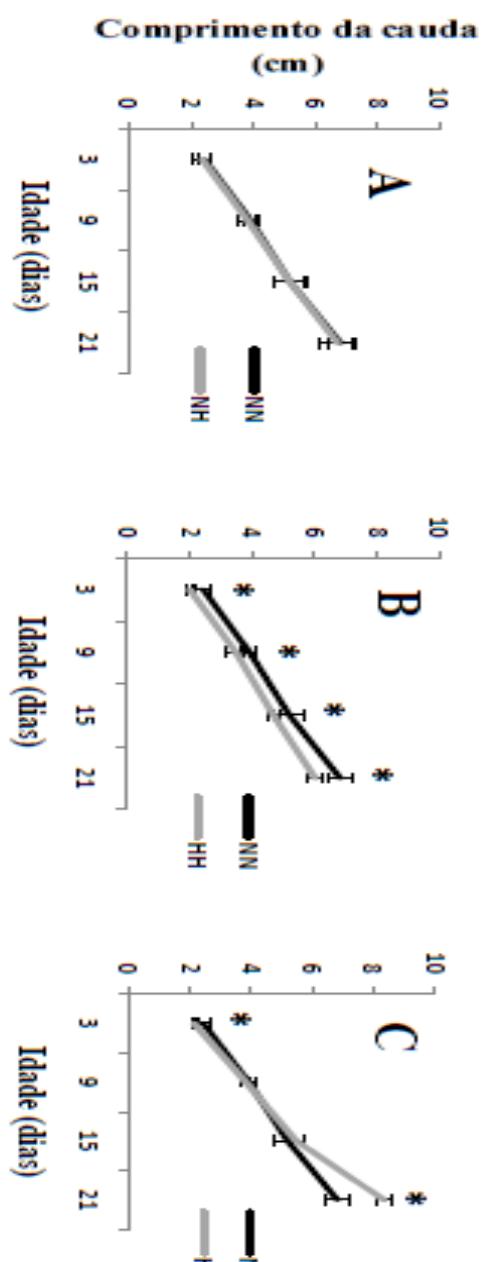


Figura 1 – Comprimento da cauda (cm) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 em quatro grupos de animais: NN (dieta padrão durante a gestação e lactação); NH (dieta normal durante a gestação e hiperlipídica na lactação); HN (dieta hiperlipídica durante a gestação e normal na lactação). A, B e C compararam cada condição experimental, NN, NH, HN ou HH, respectivamente, com a controle NN. Valores expressos em média \pm dp. Teste one way ANOVA ($*P < 0,05$).

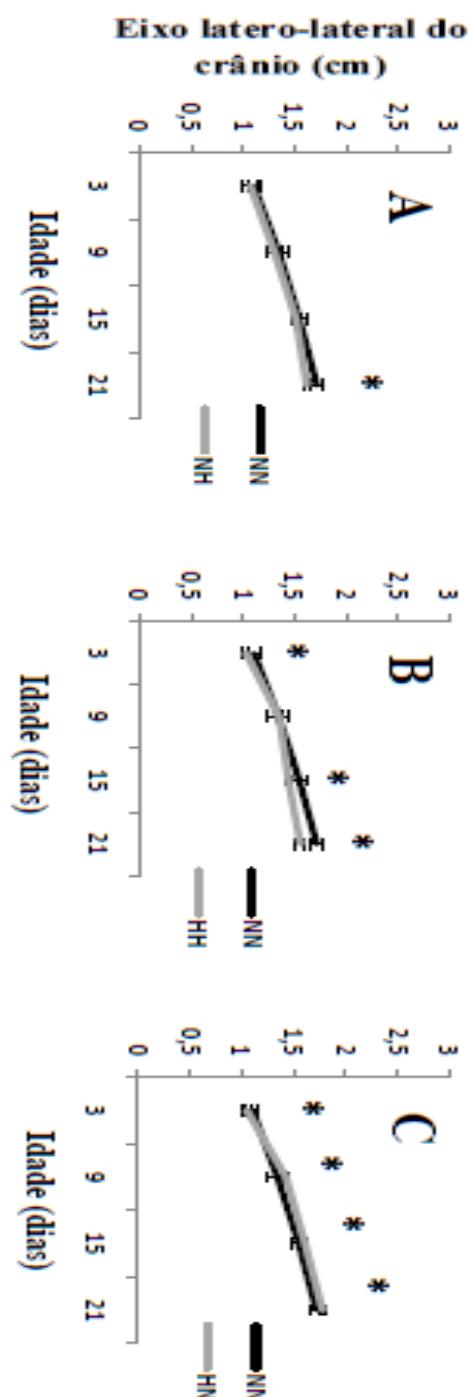
Figura 2

Figura 2 – Eixo latero-lateral do crânio (cm) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 em quatro grupos de animais: NN (dieta padrão durante a gestação e lactação); NH (dieta normal durante a gestação e hiperlipídica na lactação); HH (dieta hiperlipídica durante a gestação e normal na lactação); HN (dieta hiperlipídica durante a gestação e normal na lactação). A, B e C compararam cada condição experimental, NN, HH ou HN, respectivamente, com a controle NN. Valores expressos em média \pm dp. Teste one way ANOVA (* $P < 0,05$).

Figura 3

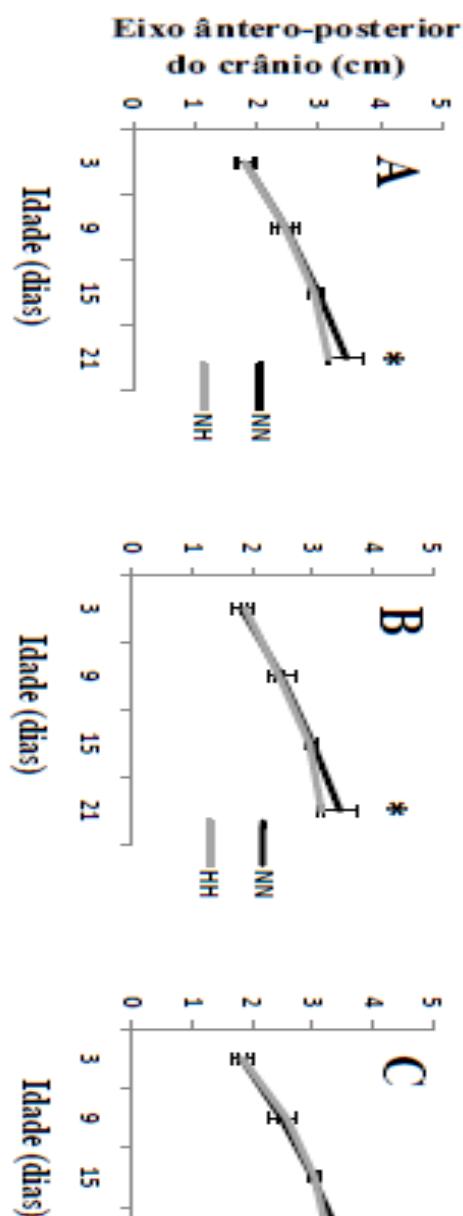


Figura 3 – Eixo antero-posterior do crânio (cm) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 em quatro grupos de animais: NN (dieta padrão durante a gestação e lactação); NH (dieta normal durante a gestação e hiperlipídica na lactação); HH (dieta hiperlipídica durante a gestação e normal na lactação). A, B e C comparam cada condição experimental, NH, HH ou HN, respectivamente, com a controle NN. Valores expressos em média \pm dp. Teste one way ANOVA (* $P < 0,05$).

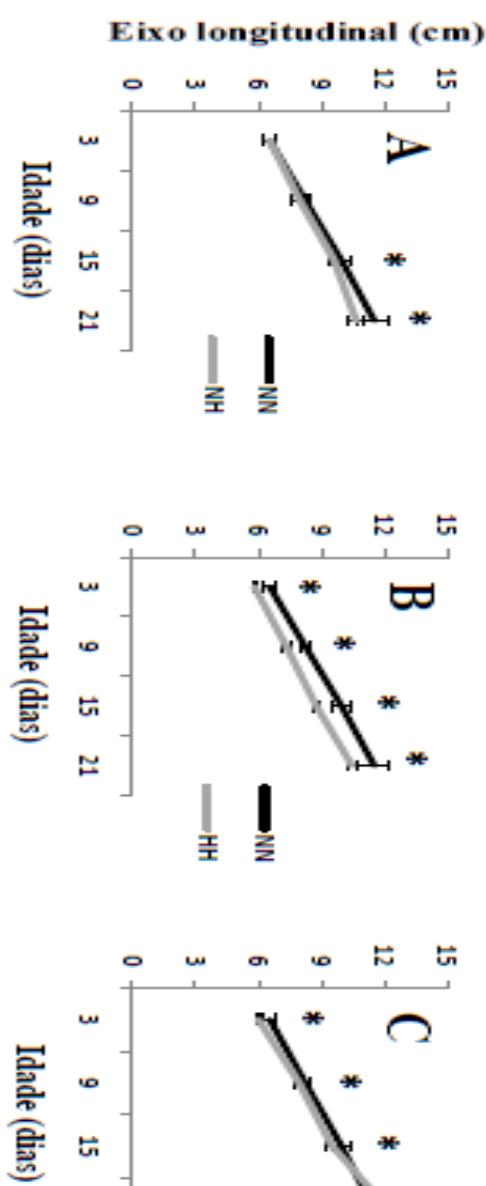
Figura 4

Figura 4 – Eixo longitudinal (cm) avaliado nos dias pós-natal 3, 9, 15 e 21 em quatro grupos de animais: NN (dieta padrão durante a gestação e lactação); NH (dieta normal durante a gestação e hiperlipídica na lactação); HH (dieta hiperlipídica durante a gestação e normal na lactação); HN (dieta hiperlipídica durante a gestação e normal na lactação). A, B e C compararam cada condição experimental, NH, HH ou HN, respectivamente, com a controle NN. Valores expressos em média \pm dp. Teste one way ANOVA ($*P<0,05$).

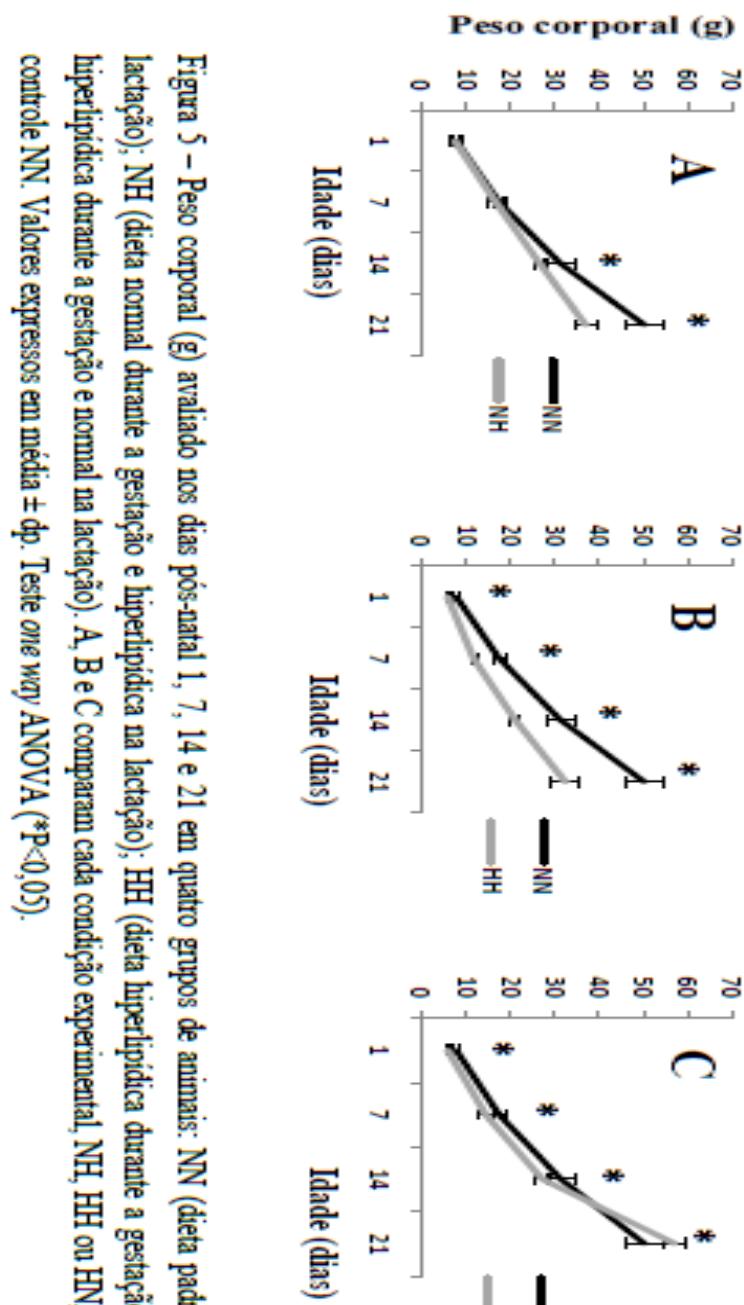
Figura 5

Figura 5 – Peso corporal (g) avaliado nos dias pós-natal 1, 7, 14 e 21 em quatro grupos de animais: NN (dieta padrão durante a gestação e lactação); NH (dieta normal durante a gestação e hiperlipídica na lactação); HH (dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação); HN (dieta hiperlipídica durante a gestação e normal na lactação). A, B e C compararam cada condição experimental, NH, HH ou HN, respectivamente, com a controle NN. Valores expressos em média ± dp. Teste one way ANOVA (*P<0,05).

ANEXO

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, 07 de novembro de 2012.

Ofício nº 510/12

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
 Para: **Profª. Ângela Amâncio dos Santos**
 Departamento de Fisiologia e Farmacologia – CCB
 Universidade Federal de Pernambuco
 Processo nº 23076.039142/2012-21

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 hiperlipídica durante a gestação e/ou lactação: repercussões sobre a morfometria intestinal e a ontogênese dos reflexos de ratos neonatos**”.

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 - UFPE; Animais: ratos Wistar; Sexo: machos (filhotes com idade de até 21 dias) e fêmeas (gestantes e/ou lactantes com idades entre 90 e 120 dias e peso aproximado de 250-300g); Número de animais previsto no protocolo: 52

Atenciosamente,


 Profª. Maria Teresa Jansen
Presidente do CEEA

CCB: Integrar para desenvolver