

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO
CURSO DE MESTRADO**

NATHÁLIA CAVALCANTI DE MORAIS ARAÚJO

**DIETA OCIDENTALIZADA NA VIDA PERINATAL: estudo do comportamento
alimentar em função dos horários de restrição temporal de alimento**

RECIFE

2018

NATHÁLIA CAVALCANTI DE MORAIS ARAÚJO

DIETA OCIDENTALIZADA NA VIDA PERINATAL: estudo do comportamento alimentar em função dos horários de restrição temporal de alimento

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.

Área de concentração: Bases Experimentais da Nutrição

Orientadora: Prof^a. Dra. Elizabeth do Nascimento

Co-Orientadora: Prof^a. Dra. Gisélia de Santana Muniz

RECIFE

2018

A663d	Araújo, Nathália Cavalcanti de Moraes. Dieta ocidentalizada na vida perinatal: estudo em ratos do comportamento alimentar em função dos horários de restrição temporal de alimento / Nathália Cavalcanti de Moraes Araújo. – Recife: o autor, 2018. 77 f.; 30 cm. Orientadora: Elizabeth do Nascimento. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Nutrição. Inclui referências, apêndices e anexos. 1. Nutrição. 2. Dieta. 3. Obesidade. I. Nascimento, Elizabeth do (orientadora). II. Título. 612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2018 - 302)
--------------	---

NATHÁLIA CAVALCANTI DE MORAIS ARAÚJO

“Dieta ocidentalizada na vida perinatal: estudo em ratos do comportamento alimentar em função da restrição temporal de alimento”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição, área de concentração bases experimentais.

Dissertação aprovada em: 02/03/2018

Prof^a. Dr. John Fontenele de Araújo
Departamento de Fisiologia/UFRN

Prof^a. Dr^a. Amanda Alves Marcelino da Silva
Universidade de Pernambuco/UPE

Prof^a. Dr^a. Matilde Cesiana da Silva
Centro Acadêmico de Vitória/UFPE

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de realizar o sonho de fazer o mestrado em Nutrição.

Agradeço em especial ao amor da minha vida, minha mãe, que com sua força e firmeza, me ensinou a nunca desistir e que foi a única pessoa que me apoiou quando eu pedi demissão do meu emprego para perseguir esse sonho de fazer o mestrado.

Agradeço aos meus pais Lúcia e Manoel por toda dedicação, amor, carinho, compreensão e confiança. Por terem lutado a vida toda para dar a melhor educação possível para minha irmã e eu.

Agradeço à minha irmã Lorena por todo amor e paciência.

Agradeço ao meu namorado Victor e ao meu pai Manoel por abdicarem de noites de sono e enfrentarem as madrugadas de experimentos junto comigo, sempre com muita boa vontade.

Agradeço aos meus colegas de mestrado que enfrentaram junto comigo todas as dificuldades para alcançar seus objetivos, em especial a minha parceira de biotério e dupla em todos os trabalhos, Nathalia Melo que sempre esteve ao meu lado desde o início, passando por todas as dificuldades junto comigo e também a Carolina Oliveira que esteve ao meu lado desde o início.

Agradeço às minhas orientadoras, professoras Elizabeth e Gisélia pela confiança, apoio, paciência, sapiência, conhecimento, conselhos. Pesquisadoras sérias, competentes e resilientes, nas quais sempre irei me inspirar, tanto profissionalmente quanto como pessoas.

Agradeço às minhas estagiárias Lorena, Laura e Maria Rita que estiveram comigo até o final dos experimentos, sempre prestativas, atenciosas e com boa vontade.

Agradeço à todos que me ajudaram diretamente nos experimentos: Cornélio, Nathália Melo, Alexandra, professora Gisélia, professora Elizabeth.

Agradeço ao Doutor França, Fernando, Cecília e todas as funcionárias da PPGN pela disponibilidade de ajudar.

Agradeço aos animais que doam sua vida pela ciência.

Agradeço à FACEPE por prover minha bolsa de estudos durante todo o período da pós-graduação.

Agradeço ao projeto CAPES-PROEX no 1734/2015 por auxiliar na compra de ingredientes para formulação das dietas experimentais

RESUMO

Mudanças na composição dietética ou energética durante o período crítico de desenvolvimento (gestação e lactação) de ratas da linhagem Wistar, ou ainda, nos horários das refeições, podem contribuir para as alterações dos parâmetros metabólicos e comportamentais nos seus descendentes. Assim, o estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da restrição do alimento durante 8h da fase escura do ciclo 24hs por 8 semanas e/ou da alimentação materna durante a gestação e lactação sobre o ritmo e comportamento alimentar, além de parâmetros metabólicos. Inicialmente utilizou-se 43 ratos machos da linhagem *Wistar* que aos 60 dias de vida formaram 4 grupos: C- Grupo Controle; Cr- Grupo Controle Restrito O- Grupo Dieta Ocidentalizada durante a gestação/lactação; Or- Grupo Dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação Restrito. Os parâmetros avaliados foram: peso corporal, ritmo de consumo alimentar, curva glicêmica de 24 horas, teste oral de tolerância à glicose (TOTG), sequência comportamental de saciedade (SCS), parâmetros bioquímicos, peso de órgãos e gordura abdominal. Nos resultados destaca-se a ausência de diferença de peso corporal nos grupos privados comparados aos controles (C = 328,8 g; Cr = 322,4 g; O = 374 g; Or = 350,2 g), apesar da significativa redução da ingestão alimentar (grupos privados tiveram ingestão global diária 49% menor em relação em controle) e elevada gordura abdominal (C = 1,88 g; Cr = 2,36 g; O = 3,56 g; Or = 3,12 g). Observou-se também alteração no TOTG com evidente mudança na glicemia (C = 138,7 mg/dL; Cr = 146,9 mg/dL; O = 183,1 mg/dL; Or = 164,2 mg/dL) e lipemia do grupo cuja mãe se alimentou de dieta ocidentalizada na gestação e lactação (C = 27,1 mg/dL; Cr = 35,66 mg/dL; O = 45,97 mg/dL; Or = 46,8 mg/dL). Na SCS foi nítida a diferença na taxa de alimentação (C = 1,14 Kcal/min; Cr = 1,03 Kcal/min; O = 2,3 Kcal/min; Or = 3,63 Kcal/min) e da duração da refeição (C = 18,97 min; Cr = 15,41 min; O = 6,54 min; Or = 7,14 min) entre os grupos oriundos de dieta ocidentalizada apenas no início da vida. Com base nos resultados, pode-se concluir que a dieta ocidentalizada ingerida pelas mães na gestação e lactação influencia em longo prazo parâmetros do metabolismo e do comportamento alimentar. Estas mudanças podem ser responsáveis por distúrbios alimentares e riscos de desenvolvimento de doenças relacionadas ao metabolismo energético.

Palavras chave: Nutrição. Dieta. Obesidade.

ABSTRACT

Changes in the dietary or energetic composition during the critical period of development in Female Wistar rats, and also, at meal times, may contribute to the metabolic and behavioral alterations in the offspring. Thus, the study aimed to evaluate the effects of food restriction during 8h of the dark phase of the 24h cycle for 8 weeks and/or of maternal feeding during gestation and lactation on the rhythm and feeding behavior, as well as subsequent metabolic outcomes. Initially 43 male Wistar rats were used, which at 60 days of life formed 4 groups: C- Control Group; Cr-Time Restricted Control Group; O- Westernized Group during gestation/lactation; Or- Time Restricted Westernized Group during gestation and lactation with deprivation. The parameters observed were: body weight, food consumption rhythm, 24-hour glycemic curve, oral glucose tolerance test (OGTT), behavioral satiety sequence (BSS), standard biochemic, organ weight and abdominal fat. Our results highlight the absence of a difference in body weight in the private groups compared to controls (C = 328.8 g, Cr = 322.4 g, O = 374 g, Or = 350.2 g), although the significant reduction of food intake (private groups had global daily ingestion was 49% smaller than the control groups); among Westernized diet groups only at the beginning of life and high abdominal fat pad (C = 1,88 g; Cr = 2,36 g; O = 3,56 g; Or = 3,12 g). It was also observed alterations on the oral glucose tolerance test (OGTT) with evidente changes on the glicemia (C = 138,7 mg/dL; Cr = 146,9 mg/dL; O = 183,1 mg/dL; Or = 164,2 mg/dL) and Ilipemia of the groups coming from the mothers submitted to westernized diet during the gestation/lactation (C = 27,1 mg/dL; Cr = 35,66 mg/dL; O = 45,97 mg/dL; Or = 46,8 mg/dL). In the BSS the difference in feed rate was clear (C =1,14 Kcal/min; Cr = 1,03 Kcal/min; O = 2,3 Kcal/min; Or = 3,63 Kcal/min) and the duration of the meal (C =18,97 min; Cr = 15,41 min; O = 6,54 min; Or = 7,14 min) among groups originating from Westernized diet only at the beginning of life. We conclude that a westernized diet ingested by mothers in gestation and lactation influenced long-term, metabolic and eating behavior. These changes can be created by eating disorders and risk of developing metabolic diseases.

Keywords: Nutrition. Diet. Obesity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5HT	5 HIDROXITRIPTAMINA
AGRP	NEUROPEPTÍDEO AGOUTI
AGT	ÁCIDOS GRAXOS TRANS
ALT	ALANINA AMINOTRANSFERASE
ARC	NÚCLEO ARQUEADO
AST	ASPARTATO AMINOTRANSFERASE
C	GRUPO CONTROLE
CART	TRANSCRITO RELACIONADO À COCAÍNA E A ANFETAMINA
CCS	CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CEUA	COMISSÃO DE ÉTICA PARA USO DE ANIMAIS
CONCEA	CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
CR	GRUPO CONTROLE RESTRITO
DCNT	DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS
DNA	ÁCIDO DESOXIRIBONUCLEICO
FAA	FOOD ANTECIPATORY ACTIVITY
FEO	FOOD-ENTRAINABLE OSCILLATOR
HDL	LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE
LDL	LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE
LEAAL	LABORATÓRIO DE EXPERIMENTAÇÃO E ANÁLISE DE ALIMENTOS
LEO	LIGHT-ENTRAINABLE OSCILLATOR
NPY	NEUROPEPTÍDEO Y
NSQ	NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO
O	GRUPO OCIDENTALIZADO

OR	GRUPO OCIDENTALIZADO RESTRITO
POMC	PRO-OPIOMELANOCORTINA
SCS	SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DA SACIDADE
SNC	SISTEMA NERVOSO CENTRAL
TACO	TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS
TNF α	FATOR DE NECROSE TUMORAL α
TOTG	TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE
UFPE	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
UFRPE	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
VET	VALOR ENERGÉTICO TOTAL
ZT	ZEITGEBER

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
3	HIPÓTESES	29
4	OBJETIVOS	30
4.1.	OBJETIVO GERAL	30
4.2 .	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
5	MATERIAS E MÉTODOS	31
5.1.	ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS	31
5.2.	COMPOSIÇÃO E HORÁRIO RESTRIÇÃO DA DIETA	33
5.3.	AVALIAÇÃO DO PESO	35
5.4.	CONSUMO ALIMENTAR E CURVA GLICÊMICA	35
5.5.	TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE	36
5.6	TESTE COMPORTAMENTAL: SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DE SACIEDADE.....	37
5.7.	AVALIAÇÃO POST-MORTEM	38
5.7.1.	Determinação do perfil bioquímico e hematológico	38
5.7.2.	Avaliação de peso úmido de órgãos e gordura abdominal.....	39
5.8.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	39
6	RESULTADOS	40
6.1.	MASSA CORPORAL DURANTE A LACTAÇÃO.....	40
6.2.	CURVA GLICÊMICA ANTES DO PERÍODO DE RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO	40
6.3.	TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE (TOTG) ANTES DO PERÍODO DE RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO	41
6.4.	RITMO ALIMENTAR ANTES DO PERÍODO DE RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO	42
6.5.	MASSA CORPORAL E CONSUMO ALIMENTAR DURANTE O PERÍODO DE RESTRIÇÃO TEMPORAL DE ALIMENTO.....	43
6.6.	CURVA GLICÊMICA AO FINAL DO PERÍODO 8 SEMANAS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR TEMPORAL.....	45
6.7.	RITMO ALIMENTAR AO FINAL DO PERÍODO DE RESTRIÇÃO ALIMENTAR TEMPORAL.....	46

6.8.	TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE DURANTE PERÍODO DE RESTRIÇÃO ALIMENTAR TEMPORAL	47
6.9.	SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DA SACIEDADE	48
6.10.	ANÁLISES DE PARAMETROS BIOQUIMICOS <i>POST-MORTEM</i>	50
7	DISCUSSÃO	52
8	CONCLUSÃO	60
	REFERÊNCIAS.....	61
	APÊNDICE A - SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DA SACIEDADE.....	76
	ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA ANIMAL.....	77

1 INTRODUÇÃO

Os hábitos alimentares sofrem influência do estilo de vida e das facilidades do mundo contemporâneo favorecendo o aumento da ingestão energética. Associado ao aumento energético encontra-se a sobrecarga de carboidratos simples, sódio e lipídios, onde nas gorduras destacam-se os ácidos graxos saturados e os ácidos graxos trans. Este conjunto da composição nutricional configura o hábito alimentar difundido nas sociedades ocidentais conhecido como dieta “ocidentalizada” (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006; MENDONÇA; ANJOS, 2004). Associada a estes componentes da dieta ocidentalizada está a frutose, que quando porcessada industrialmente, é um edulcorante que tem sido implicado no desenvolvimento de uma série de anormalidades metabólicas, incluindo resistência à insulina, inflamação, dislipidemia e obesidade, em humanos e animais (LUSTIG, 2013; REGNAULT et al. 2013; STANHOPE et al. 2008; TOOP & GENTILI, 2016). Esta tendência alimentar com alto consumo de gorduras e/ou açúcares, consequentemente associa-se o aumento da síntese de gordura corporal e aumento da circulação de frações lipídicas a exemplo do triglicerídeo, colesterol total e lipoproteínas de baixa densidade (LDLc). Este conjunto gera acúmulo excessivo de gordura corporal, sobrepeso/obesidade, aumentando o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (SANTOS et al, 2010).

A exposição materna à dieta ocidentalizada durante o período crítico de desenvolvimento, gestação e lactação, gera uma programação metabólica na prole que pode levar a obesidade, resistência à insulina e hipertensão na vida adulta (GLUCKMAN e HANSON, 2004). Modelos de animais fornecem fortes evidências que a nutrição perinatal também tem um impacto duradouro em inúmeros aspectos da fisiologia e do comportamento da prole (BILBO e TSANG, 2010), incluindo a alteração no comportamento alimentar (NAEF et al, 2008).

O comportamento alimentar atua por meio da seleção e ingestão do alimento que se mostra como um ponto crítico para elucidar aspectos relacionados ao tratamento e prevenção da obesidade (ADAMS et al, 2008). O balanço energético consiste em um estado metabólico, precisamente regulado dia após dia,

caracterizado pelo equilíbrio entre gasto e consumo energético. Essa regulação precisa, na qual chamamos de controle do comportamento alimentar ou do balanço energético, integra informações vindas de tecidos e órgãos periféricos acerca do estoque nutricional do corpo com o Sistema Nervoso Central. Neste, destaca-se a função do hipotálamo, localizado no diencéfalo, onde as informações periféricas influenciarão o balanço entre peptídeos orexigênicos e anorexigênicos que refletirá no consumo alimentar e gasto energético.

No hipotálamo, localizado subjacente à eminência média, região desprovida da proteção da barreira hematoencefálica, o núcleo arqueado (ARC) é altamente acessível aos sinais periféricos liberados por tecidos relacionados ao balanço energético. Neste núcleo há duas populações de neurônios primários (CONE et al., 2001), uma cujo circuito neural expressa o peptídeo pro-opiomelanocortina (POMC) e o transcrito relacionado à cocaína e anfetamina (CART), que inibem o consumo alimentar (KRISTENSEN et al., 1998) e a outra cujo circuito neural expressa neuropeptídeo Y (NPY) e neuropeptídeo agouti (AgRP) que estimulam o consumo alimentar (BROBERGER et al., 1998). Do núcleo arqueado axônios de neurônios POMC/CART e NPY/AgRP projetam-se para outros núcleos hipotalâmicos tais como o núcleo paraventricular, hipotálamo dorsomedial, área hipotalâmica lateral e perifornical, que possuem neurônios de segunda ordem e integram informações sobre energia de homeostase (ELIAS et al., 1998; KALRA et al., 1999). A homeostase, do grego “mesmo” e “constante”, foi definida como qualquer processo no qual as “coisas vivas” utilizam para manter ativas condições razoavelmente estáveis, necessárias à sobrevivência (CANNON, W.B., 1929).

A manutenção da homeostasia energética está altamente relacionada a ingestão energética/nutricional e ao comportamento alimentar. O comportamento alimentar obedece a um ritmo biológico de aproximadamente 24 horas, mas é altamente influenciado pelos fatores ambientais, a exemplo do horário de trabalho, da privação de refeições ou de sono.

O comportamento pode ser compreendido tanto como uma junção de fatores filogenéticos, que atuam durante o processo de evolução de uma dada espécie, quanto de fatores ontogenéticos, que operam nas interações de um dado organismo

dessa espécie com seu ambiente (CATANIA, 1999). O comportamento alimentar pode ser definido como uma resposta adaptativa ao aparecimento de demandas do ambiente interno e modulado por características proeminentes do ambiente externo (ISHII et al, 2003). Portanto, comportamento alimentar vai além da ingestão de alimentos e se complementa com ações como a frequência com quem se come, o quanto se come, o tempo despendido, etc. Em ratos especificamente, o comportamento alimentar envolve uma sequência de comportamentos expressos pelo animal que pode ser modificada por fatores como a desnutrição perinatal (OROZCO-SÓLIS et al, 2009) ou composição dietética (MELHORN et al, 2010).

Apesar do conhecimento de que alguns fatores atuam como moduladores da Sequência Comportamental de Satedade (SCS), ainda se tem pouco conhecimento do comportamento alimentar de descendentes de mães que foram alimentadas na gestação e lactação com dieta alterada na proporção de macronutrientes e energia, bem como, se ocorre mudanças no comportamento alimentar e no metabolismo desses animais quando estes são privados de se alimentarem por 8 horas ao longo da fase escura do ciclo 24h.

O tempo de privação/restrrição de alimento buscou mimetizar hábitos alimentares de indivíduos que não costumam realizar as refeições em horários regulares e costumam alimentar-se mais no período da noite, conhecidos como “comedores noturnos”. O escopo do trabalho foi avaliar nestes animais, tanto com dieta padrão quanto com a dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação, o comportamento alimentar e parâmetros fisio-metabólicos.

Pretende-se publicar um ou dois artigos originais em revista com fator de impacto acima de 1,06 ou de Qualis igual ou maior que B2 na área de nutrição da CAPES.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A gravidez é um dos quadros mais complexos de alterações e ajustes fisiometabólicos que ocorrem no organismo e tem como principal função a formação de ambiente adequado para o desenvolvimento fetal. As alterações fisiológicas e metabólicas da gestação visam manter o crescimento fetal normal, sem prejuízo materno, desde que a mãe esteja em condições de saúde e nutrição adequadas. A alimentação tem papel relevante para a saúde dos indivíduos, principalmente nas etapas da vida caracterizadas pelo aumento da demanda de energia e de nutrientes, como a gestação. (KING, WEININGER, 1991; GUTHRIE e PICCIANO, 1995).

As mulheres, principalmente as gestantes, constituem uma das populações mais vulneráveis da sociedade, sendo sua condição de saúde um dos principais indicadores de desenvolvimento das gerações futuras (MAHANTA et al, 2015). Durante a gestação, o aumento da procura de fontes energéticas e de nutrientes é necessário para prover o crescimento e desenvolvimento adequado do feto, assim como são requeridos devido às mudanças no metabolismo materno (SANTOS et al, 2014). Sucedendo o período gestacional, tem-se o início da lactação, que por sua vez se caracteriza por uma maior demanda das necessidades nutricionais e energéticas, quando comparado ao requerido na gestação, onde a dieta influencia diretamente na síntese, composição e secreção de leite (SANTOS, 2014).

No período gestacional ocorrem intenso e peculiar processo de formação de tecidos e grandes transformações orgânicas durante um curto espaço de tempo. O ganho de peso durante a prenhez na rata compreende duas fases metabólicas distintas: a anabólica, da cópula ao 14º dia de prenhez, e a catabólica, do 14º dia até o momento do parto (NAISMITH e MORGAN, 1976). A primeira fase, caracterizada por decréscimo do catabolismo protéico, é quando ocorre o preparo do organismo gestante para suportar o crescimento fetal e a lactação. A segunda fase é caracterizada pelo rápido crescimento fetal. Em consequência, há grande utilização dos estoques maternos de gordura, acumulados durante a primeira fase (NAISMITH e MORGAN, 1976; KNOPP et al., 1982).

O conjunto de modificações que ocorrem no organismo materno durante a gestação e lactação levam a maiores demandas nutricionais, havendo a

necessidade de um aumento proporcional dos nutrientes da alimentação materna, tanto nos períodos pré como pós-natal (BAKER, 1979; YAZLE, 1998). Segundo Fowden e colaboradores (2009) a nutrição materna exerce um importante papel no desenvolvimento e modulação dos sistemas fisiológicos do ser em formação. O estado nutricional materno pode influenciar o desenvolvimento fetal e a manutenção do crescimento adequado (SOHLSTROM, 1994). A nutrição fetal está intimamente ligada, não só à ingestão dietética e aos estoques de nutrientes maternos, como também à capacidade de liberação e transferência da placenta (PINE et al, 1993).

O período lactacional também requer uma demanda adicional de energia, além dos exigidos para as necessidades basais (PICCIANO, 1997). Desta forma, uma nutrição adequada e balanceada constitui um fator protetor, tanto para o feto quanto para o recém-nascido. Durante a gestação ocorre aumento gradual da resistência à insulina na mãe para garantir o fornecimento de nutrientes para o crescimento e desenvolvimento do feto. Isto se deve ao aumento progressivo nas concentrações plasmáticas dos hormônios gestacionais, do cortisol e de citocinas inflamatórias (TNF α) durante o período (RYAN& ENNS, 1988; KIRWAN et al., 2002; MASTORAKOS & ILIAS, 2003; BARBOUR et al., 2004) .

As alterações no metabolismo lipídico evidenciadas na gestação garantem modificações específicas quanto ao direcionamento de substratos circulantes, na gestação para o crescimento fetal, durante a lactação para a glândula mamária e após o desmame para a reposição de tecido adiposo (DÂMASO; OLLER DO NASCIMENTO, 1998). Durante o curso da gestação normal em humanos, os níveis séricos de lipídios e lipoproteínas sofrem variações e aumento dos triglicérides (TG), colesterol e fosfolipídios. O nível sérico de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL) aumenta ao longo da gestação, com pico na 36ª semana, provavelmente em consequência dos efeitos hepáticos do estradiol e da progesterona. O nível sérico de colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL) eleva-se até um pico na 25ª semana, diminuindo seus níveis até a 32ª e permanecendo constante até o final da gravidez. Acredita-se que o estrogênio seja o responsável pelo aumento do nível sérico de HDL na primeira metade da gestação (CUNNINGHAM,et al 2001). Estas mudanças são consideradas reflexo do aumento

da demanda metabólica do organismo materno durante esse período (KNOPP, et al, 1992; JIMENEZ, et al, 1988).

Alguns nutrientes como carboidratos e lipídeos devem ser analisados quando se estuda a alimentação de gestantes, em virtude de serem os que têm maior probabilidade de consumo inadequado, pelo fato de mulheres gestantes, em sua maioria apresentarem um desequilíbrio alimentar, pelo consumo em excesso desses nutrientes durante esse período. Os substratos energéticos na gestação vão para o crescimento fetal e para o acúmulo de tecido adiposo. Na lactação, os substratos são direcionados para a glândula mamária para garantir adequada síntese e produção de leite. (DÂMASO; OLLER DO NASCIMENTO, 1998).

O prognóstico da gestação é influenciado pelo estado nutricional materno antes e durante a gravidez. A inadequação do estado nutricional materno tem grande impacto sobre o crescimento e desenvolvimento do recém-nascido, pois o período gestacional é uma fase na qual as necessidades nutricionais são elevadas, decorrentes dos ajustes fisiológicos da gestante e das demandas de nutrientes para o crescimento fetal (ACCIOLY, et al 2002).

Uma inadequação do estado antropométrico materno, seja no período pré-gestacional, gestacional ou lactacional, exerce importante influência sobre o estado de saúde do concepto (PADILHA et al., 2009; PENFOLD & OZANNE, 2015; McCURDY et al., 2016). Durante a gestação, dietas maternas ricas em gordura podem prover um rápido crescimento, particularmente relacionado à terceira semana gestacional. Estudos utilizando modelos de nutrição materna alterada e insuficiência uteroplacentária, sugerem que o ambiente gestacional influencia o fenótipo pós-natal por meio de alterações epigenéticas in utero envolvidas nas modificações covalentes das histonas e na metilação do DNA (SUTER et al., 2011). Igualmente, provê mudanças na atividade de peptídeos neurais, que parecem persistir nos seus descendentes com consequências severas em longo prazo nos processos de memória e aprendizagem (MIELKE et al., 2006; ASHINO et al., 2012). Modelos animais prévios mostraram que alterações nutricionais durante a gravidez e no período pós-natal precoce predispõem os filhotes a desenvolverem desordens metabólicas (McCURDY et al., 2009; RAMONIENÉ et al., 2017). Logo, mães que consomem uma dieta com o perfil ocidentalizado podem favorecer o aparecimento

em seus descendentes de fatores como aumento de peso e de adiposidade, aumento da concentração de leptina (SUN et al., 2012) e menor tolerância à glicose durante o desmame (CATALANO et al., 2009), alterações na expressão de genes e programação epigenética (CLAYCOMBE; BRISSETTE; GHRIBI, 2015); formação prejudicada do sistema imunológico e predisposição a ocorrência de processos inflamatórios (LEIBOWITZ et al., 2012; SASAKI et al., 2014).

Em adição, eleva os níveis circulantes de combustíveis metabólicos que podem levar a alterações na bioenergética cardíaca, resultando em uma cardiomiopatia diabética (LOPASCHUCK et al., 2010; UPADHYAYA et al., 2017) e o risco de desenvolvimento de patologias a nível do sistema nervoso central (GUILLE-MOTLEGRIS et al., 2016). A influência da dieta materna sobre a vulnerabilidade de processos inflamatórios na prole parece ocorrer na vida intrauterina por mecanismos ainda pouco explorados. O estresse nutricional na gestação causa alterações adaptativas de sobrevivência por meio da programação metabólica (ALBUQUERQUE et al., 2006), fenômeno caracterizado por alterações que ocorrem durante o período crítico de desenvolvimento e que produz repercussões persistentes na expressão do fenótipo metabólico dos descendentes (SUN et al., 2012.; ALFARADHI et al., 2016).

Além da gestação, o período lactacional é de extrema importância para o crescimento e desenvolvimento. Em humanos, está relacionado à construção de preferências alimentares e formação do sistema imune (TINOCO et al., 2007) e, em roedores, à elevada taxa de neurogênese, sinaptogênese e morfologia celular (MORGANE et al., 1993), correspondendo ao período de maior vulnerabilidade do sistema nervoso a insultos ambientais. A dieta da mãe, por sua vez, influencia diretamente na concentração de alguns nutrientes do leite materno, onde se tem como exemplo a quantidade de gordura (TINOCO et al., 2007).

Em animais, Purcell e colaboradores (2011) analisaram a composição do leite materno de ratas que ingeriram dieta hiperlipídica durante a lactação e observaram maior teor de gordura, proteína e energia bruta. Essas observações se assemelham as observadas por Sun et al (2012) de que a dieta materna rica em gordura durante o período de amamentação é uma fase crítica na determinação de consequências metabólicas para a descendência, a qual parece ocorrer tanto em

humanos como em animais. O conteúdo de ácidos graxos trans (AGT) presente no leite materno refletem a ingestão alimentar da nutriz (TINOCO et al., 2007). Em geral, o leite contém 5% de gordura (LARQUÉ et al., 2001), porém, de acordo com a alimentação materna, os níveis de AGT podem variar de 1,9 a 7,2% (TINOCO et al., 2007). Uma relação dose-resposta direta foi observada em um estudo experimental, onde a incorporação dos AGT mostrou-se presente no plasma e aorta dos filhotes (KUMMEROW et al., 2004).

Isto reforça a influência que a alimentação materna no período pós-natal precoce pode exercer no crescimento, desenvolvimento, resposta imunológica e prevenção de doenças crônicas na vida adulta de seus filhos. Os efeitos adversos da dieta típica dos hábitos alimentares ocidentais (rica em açúcares simples, frutose e gorduras saturadas) mostram-se independentes de outros fatores ambientais e vão além do aparecimento da síndrome metabólica (ALBUQUERQUE et al., 2006). Sua influência é observada na ocorrência de estresse oxidativo precoce, acúmulo de gordura e ativação da c-Jun Nterminal Kinase (JNK) no fígado, culminando com o desenvolvimento da esteatohepatite não alcoólica (ASHINO et al., 2012). E, por alterar a capacidade de depuração hepática, a obesidade acarreta em alterações na dosagem, na frequência de administração, no tempo de meia vida, tempo de ação, metabolismo e eliminação de diversos fármacos (MATSON, HORTON & CAPINO, 2017).

Du, em 2012, estudando em ratos o efeito da dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação no leite materno e suas repercussões metabólicas na prole, mostrou que esta dieta causa a secreção de leite inflamatório, rico em ácidos graxos de cadeia longa e saturados (LcS-FAs), o qual ativa a sinalização do Toll-like receptor 2/4 (TLR2/4-Myd88) que eleva os níveis de citocinas e enzimas pró-inflamatórias, consequentemente provocando toxicidade neonatal. Este estudo demonstrou que a lipotoxicidade induzida pelo leite inflamatório como resultado da dieta ocidentalizada, leva à síndrome metabólica na prole.

Assim, a inadequação alimentar durante o período gestacional e lactacional, pode acarretar alterações que irão influenciar o metabolismo da prole. No Brasil, o fato é preocupante, apesar de poucos estudos terem avaliado o consumo alimentar das mulheres no período de gestação e de lactação. Barros et al,

observaram que salgados, refrigerantes, açúcar e batata frita eram frequentes nas dietas de gestantes adolescentes (BARROS et al, 2004). O estudo realizado por Azevedo e Sampaio mostrou uma dieta monótona, com alto teor de lipídios e inadequação de carboidratos nessa população (AZEVEDO e SAMPAIO, 2003). A pesquisa de orçamento familiar (POF) realizada em 2003 ratifica a tendência mundial da preferência por alimentos industrializados (ricos em gordura, açúcar e sal). O aumento no consumo destes produtos foi de até 400% em alimentos como refrigerantes e biscoitos (IBGE, 2004), sendo este último uma das principais fontes de gordura trans. O consumo de uma alimentação inadequada durante a gestação e lactação pode acarretar alterações nos níveis séricos de glicose e no perfil lipídico. A dieta de cafeteria, conhecida também como “dieta ocidental” (“Western diet”), contém um aporte calórico maior, concomitante com o aumento da quantidade de carboidratos e/ou de lipídeos (BAYOL et al., 2010; ELAHI et al., 2009).

Dentre as fontes de carboidratos acrescentados aos alimentos industrializados destaca-se a frutose. Esta, por sua vez, vem sendo adicionada às formulações por ser um edulcorante substituto para a glicose ou sacarose na preparação de sobremesas, condimentos e bebidas carbonatadas (ELLIOTT et al., 2002; BARREIROS, BOSSOLAN e TRINDADE, 2005).

No entanto, estudos experimentais observaram que seu consumo em excesso tem relação com a resistência à insulina, dislipidemias, aumento da massa gorda abdominal (CIOFFI et al., 2017; ZUBIRIA et al., 2017), alterações na secreção de adipocinas (ZUBIRIA et al., 2016), aumento da lipogênese hepática (SAMUEL, 2011) e espessamento da camada média da artéria mesentérica, indicando remodelação vascular. Adicionalmente encontra-se envolvida na diminuição do óxido nítrico e aumento da biodisponibilidade ao estresse oxidativo e processos inflamatórios (TZIOMALOS et al., 2010; PANCHAL et al., 2011; MANEESAI et al., 2016).

Estudos experimentais em ratos que utilizaram esta dieta apontam alterações no metabolismo glicídico, lipídico e na função endotelial mesmo sem alterações no peso (NADERALI et al, 2001). Estudo em animais, correlacionando uma dieta rica em gordura ao ganho de peso corporal, foi descrito pela primeira vez em 1959 através de uma intervenção nutricional com “*high-fat diet*” (do inglês, dieta rica em

gordura), isto é, uma proporção elevada de gordura dietética por si conduz ao desenvolvimento de obesidade (MASEK; FABRY, 1959). Na literatura várias dietas com diferentes composições de ácidos graxos estão resumidas com o termo “*high-fat diet*”, levando a uma considerável variabilidade nos resultados (BUETTNER et al, 2006).

Em geral dietas baseadas em ácidos graxos saturados induzem o fenótipo típico de dieta rica em gordura, enquanto que dietas contendo ácidos graxos poliinsaturados ω -3 exercem efeitos benéficos sobre composição corporal e ação da insulina (STORLIEN et al, 1991; STORLIEN et al, 1996; BUETTNER et al, 2006).

Os efeitos dessa dieta sobre a saúde da prole vêm sendo muito estudado, mas pouco se conhece sobre as repercussões no ritmo alimentar circadiano das proles submetidas a este tipo de dieta na vida perinatal. A gestação e lactação são períodos de formação de órgãos e sistemas e a nutrição da mãe neste período pode contribuir para promoção ou prevenção de morbidades futuras. Assim, estudos experimentais objetivando avaliar os efeitos da inadequação alimentar durante a gestação e lactação e suas repercussões são de grande interesse.

Variações diárias, fisiológicas e comportamentais são dependentes de oscilações endógenas que se ajustam a variações cíclicas do ambiente externo. A expressão comportamental, por conseguinte, se expressa de forma oscilatória (recorrente) em várias frequências (BELISIO et al, 2012). A alimentação, por exemplo, é considerada uma variável biológica de recorrência periódica, ou o que se chama de ritmo biológico.

Uma das variáveis ambientais sincronizadoras dos ritmos biológicos refere-se aos estímulos não fóticos (não mediados pela luz). São estímulos não fóticos: horário da alimentação, temperatura do ambiente, umidade (BOULOS; TERMAN, 1980; BOULOS et al, 1996; MROSOVSKY, 1996; REFINETTI, 2006; MELO et al, 2006; BELISIO et al, 2012).

Na natureza, a maioria dos organismos vivos vivem ajustados a essas mudanças ambientais periódicas e tal ajuste é denominado sincronização. Quando um ritmo está sincronizado a um zeitgeber (do alemão “doador de tempo”, é um estímulo extrínseco que muda ou reinicia, “arrasta”, a fase do relógio circadiano), diz-se que o ritmo mantém uma relação de fase estável com a variável ambiental.

Por exemplo, o momento (fase) de início da atividade está atrelado ao início do dia (nascer do sol) na espécie *Callithrix jacchus* (sagui comum). Para rato, no entanto, o início da fase de claro está relacionado com o início de sua fase de repouso (MELO, 2006).

Há também os estímulos fóticos, isto é, mediados pela luz. A estrutura que recebe essas informações fóticas é chamada de núcleo supraquiasmático (NSQ), está localizado no hipotálamo, além de “marcapasso ou oscilador central”, é considerado um elemento do sistema de sincronização pela luz (LEO, do inglês *Light-Entrainable Oscillator*). O NSQ recebe informações da retina e as transmite para um grupo seletivo de áreas do encéfalo. Entretanto as projeções do NSQ não explicam todas as alterações fisiológicas e comportamentais em resposta ao ciclo claro/escuro (LU et al, 2001; CHOU et al, 2003; CAVALCANTE, 2008). Porém, o controle da duração das fases clara e escura ao longo de 24 horas afeta consistentemente a ritmicidade circadiana. Outras variáveis que podem interferir na expressão da ritmicidade circadiana são: a temperatura, a umidade e ruídos no ambiente experimental (BELISIO et al, 2012). O sistema de ritmos circadianos exibe uma organização que obedece a uma hierarquia. Hierarquia na qual o núcleo supraquiasmático ocupa o topo, sendo o NSQ responsável por sincronizar os relógios periféricos com o ciclo claro/escuro (RUSAK e GROOS, 1982; SAKAMOTO, NAGASE et al., 1998).

Essas células são sincronizadas pela luz captada pela retina via trato retino-hipotalâmico, que regulam além de outros sistemas, o metabolismo energético, influenciando processos como a ingestão alimentar e a expressão, secreção e atividade de hormônios e enzimas metabólicas através de sinais neuronais e endócrinos (BARCLAY et al, 2012; OISHI; ITOH, 2013). O NSQ é necessário para a expressão de ritmos circadianos endógenos e sincronização à luz, e sua lesão causa perda destes ritmos (VAN ESSEVELDT; LEHMAN; BOER, 2000).

Após a definição de ritmo circadiano outros ritmos foram classificados de acordo com a frequência, são eles: ultradianos (vários ciclos ocorrem em 24 horas, apresentam períodos menores do que 20 horas) e infradianos (um ciclo necessita de mais de 28 horas para ocorrer, têm períodos maiores do que 28 horas) (BELISIO et al, 2012).

Além da sincronização pela luz, a alimentação figura como potente sincronizador de osciladores periféricos (células osciladoras localizadas em estrutura externa ao NSQ). Dentre os tecidos e órgãos periféricos influenciados pela alimentação podem-se citar tecidos como o sangue, o tecido adiposo, o pâncreas e o fígado. A modulação da atividade das “células do oscilador” pela alimentação, e, por conseguinte da expressão gênica, é conhecida como oscilador sincronizado por alimento (do inglês, *Food-Entrainable Oscillator* ou FEO) (DÍAZ-MUÑOZ et al, 2010). Mesmo lesionado o NSQ, a sincronização alimentar continua a influenciar essas estruturas periféricas, sugerindo a existência de osciladores sincronizados pelo alimento (FEO) (KRIEGER; HAUSER; KREY, 1977; STEPHAN; SWANN; SISK, 1979; CAVALCANTE, 2008).

A influência do horário da alimentação como um sincronizador periférico foi investigada através da expressão diária dos genes relógio (*Per1*, *Per2* e *Bmal1*) em várias regiões hipotalâmicas, com a finalidade de determinar se o horário da restrição de alimento afeta os genes do relógio em osciladores externos ao sistema nervoso central (SNC) de forma uniforme. Ratos *Wistar* foram mantidos em restrição alimentar (duas horas de acesso diário ao alimento) ou com alimentação “ad libitum” durante 3 semanas. O horário de restrição alimentar afetou a expressão dos genes provocando uma mudança de fase, ou seja, uma modificação de acordo com a combinação de núcleos hipotalâmicos e genes direcionados. Esses dados reforçam que os sinais metabólicos ou temporais provocados pela alimentação modificam a organização temporal no hipotálamo (MIÑANA-SOLIS et al, 2010).

Em uma breve revisão sobre sincronizadores alimentares, foi demonstrada em mamíferos uma atividade antecipatória diária aos ciclos de disponibilidade de alimento. Estudos com atividade antecipatória arrastada pelo alimento identificaram essa antecipação como uma forma comportamental do FEO para separar do LEO, localizado no NSQ (CARNEIRO; ARAÚJO, 2012).

Somente quando uma quantidade mínima de calorias é disponibilizada ao animal ocorre a sincronização devido à disponibilidade de alimento (STEPHAN, 1997), apesar da informação gustatória isolada não ser suficiente para gerar sincronização (STEPHAN; DAVIDSON, 1998). Através de diversos hormônios o sistema digestório contata a parte central do sistema nervoso, porém a identidade de

um sinal humoral servindo ao propósito de sincronização através do alimento ainda não foi descoberta (CAVALCANTE, 2008).

Quando o alimento é restrito de ratos de laboratório à poucas horas durante a fase clara, observa-se atividade tipicamente noturna, podendo ter sua atividade diurna aumentada (STEPHAN, 2002; CAVALCANTE, 2008). Essa atividade diurna antecipada se limita ao período de disponibilidade do alimento (EDMONDS, 1977; STEPHAN, 1984) e é conhecida como atividade antecipatória arrastada pelo alimento. Portanto, o alimento interfere no comportamento e na sincronização de ritmos fisiológicos através da comida a partir da expressão de um oscilador arrastado pelo alimento, FEO (DÍAZ-MUÑOZ et al, 2010). A maior atividade locomotora do animal momentos antes da oferta de alimento, que é conhecida como atividade antecipatória pelo alimento (*food anticipatory activity*- FAA). Além de alterar outros comportamentos e ritmos endógenos como a temperatura corporal e concentração de corticosterona no plasma (FEILLET; ALBRECHT; CHALLET, 2006; YOUNG; BRAY, 2007). Embora tenham propriedades semelhantes aos ritmos circadianos sincronizados pela luz, os ritmos sincronizados pelo alimento não compartilham as mesmas bases neurais (CAVALCANTE, 2008).

Kohsaka et al (2007) demonstraram que animais com restrição de dieta hiperlipídica apenas na fase clara do ciclo desenvolvia atividade antecipatória da alimentação algumas horas antes do horário do dia em que o alimento era disponibilizado. Além desse estudo, existem outros autores que demonstraram que o consumo de uma dieta de alto teor calórico altera a função do oscilador circadiano do mamífero, influenciando o metabolismo dos carboidratos pela amplificação da variação circadiana na tolerância à glicose e sensibilidade à insulina (VIEIRA et al, 2012).

A dessincronização entre os relógios centrais e periféricos como alteração do tempo de ingestão de alimentos e/ou da composição da dieta pode conduzir ao desacoplamento dos relógios periféricos do precursor central provocando em humanos, desenvolvimento de distúrbios metabólicos, incluindo a obesidade e o diabetes tipo 2 (OOSTERMAN et al, 2015).

O leque de evidências na literatura aponta em direção de que a perturbação dos ritmos circadianos pode estar diretamente ligada à regulação do metabolismo

energético e de muitas condições patológicas, incluindo distúrbios do sono, depressão, síndrome metabólica e câncer. A hipótese mais plausível é que a regulação do oscilador circadiano ocorra em via dupla. Enquanto os osciladores circadianos regulam várias vias metabólicas, o comportamento e a ingestão alimentar, bem como, a circulação de metabólitos, podem, por sua vez, regular relógios circadianos periféricos (SAHAR; SASSONE-CORSI, 2012).

O comportamento alimentar é controlado pela interação entre eventos psicológicos (percepção de fome, ânsias, sensações hedônicas), operações comportamentais (ingestão de refeições, lanches e macronutrientes), e eventos metabólicos fisiológicos periféricos e centrais, além dos níveis de neurotransmissores (BLUNDELL; GOODSON; HALFORD, 2001).

Dois mecanismos distintos, porém relacionados, explicam a regulação da ingestão alimentar, são eles: mecanismos homeostáticos e mecanismos não homeostáticos ou hedônicos (LUTTER; NESTLER, 2009; EGECIOGLU et al, 2011). O sistema homeostático inclui reguladores hormonais da fome, saciedade e dos níveis de adiposidade. Nesse tipo de sistema, hormônios como leptina, grelina e a insulina atuam em circuitos cerebrais hipotalâmicos e do tronco cerebral, estimulando ou inibindo a fome, de forma a manter um balanço energético adequado. Também desempenha um papel importante na ingestão alimentar, o sistema hedônico ou do circuito de recompensa (prazer) (LUTTER; NESTLER, 2009; KENNY, 2011). Em geral, alimentos poucos saborosos não são consumidos em excesso; enquanto os alimentos considerados palatáveis são frequentemente consumidos mesmo após as necessidades energéticas terem sido atingidas (KENNY, 2011), justamente porque o controle hedônico pode se sobrepor ao controle homeostático. Alterações no tamanho ou na frequência da refeição têm sido apontadas como fatores modulados da composição dietética da refeição (MELHORN et al, 2010). A gordura, por exemplo, é conhecida por proporcionar alto teor de saciedade, mas, baixo poder de saciação.

A ingestão de alimentos e o metabolismo destes nutrientes são controlados por sistemas neuroquímicos e neuroendócrinos específicos. Modificações nesses sistemas podem correlacionar-se as alterações no comportamento alimentar (CAMBRAIA, 2004).

O hipotálamo está envolvido em diversas atividades ligadas a alimentação, como: auto-seleção de alimentos, no estresse alimentar, no paladar e na aprendizagem aversiva (BERNARDIS; BELLINGER, 1996). O hipotálamo lateral especificamente está associado aos sistemas catecolaminérgico e serotoninérgico, envolvido no controle circadiano da alimentação. Já o hipotálamo basomedial e a expressão do neuropeptídeo Y (NPY) estão envolvidos de forma direta com o aumento na ingestão de alimentos (WHITE; DEAN; MARTIN, 1998), além da expressão da Orexina A que aumenta a ingestão de alimentos e retarda o início da saciedade (RODGERS et al, 2002). O controle da ingestão energética e a preferência por gordura tem participação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. Um estudo com animais demonstrou que a alta preferência por gordura pode estar relacionada à sensibilidade exacerbada ao hormônio liberador da corticotropina (HERMINGHUYSEN et al, 1998).

Os mecanismos de controle da ingestão alimentar envolvem uma série de interações morfológicas, moleculares e funcionais. Na regulação desse processo, numerosos peptídeos agem como neurotransmissores ou peptídeos hormonais (MORLEY, 1987). Neste contexto, os estoques de seus precursores dietéticos influenciam os níveis e as possíveis funções de diversos neurotransmissores. As aminas biogênicas (serotonina, dopamina, noradrenalina, histamina) constituem os principais neurotransmissores, e são formadas a partir de aminoácidos como o triptofano, a tirosina e a histidina, além de acetilcolina e glicina que podem constituir-se a partir de colina e treonina (YOUNG, 1996). Além das aminas biogênicas, as orexinas, as quais estão confinadas à uma população distinta de neurônios nos hipotálamos perifornical, lateral e dorsal, com projeções para vários núcleos hipotalâmicos vizinhos, bem como diversos locus do prosencéfalo, mesencéfalo e tronco encefálico, e estas atuam na regulação do comportamento de ingestão alimentar (RODGERS et al, 2002). Alguns estudos com animais sugerem que a serotonina também está envolvida no controle da ingestão alimentar, a qual em altos níveis diminui a ingestão energética total, ou de forma seletiva, reduz a preferência de carboidrato em relação à proteína (HOLDER, 1990; LEIBOWITZ, 1992). A histamina, além de estar implicada em diversos mecanismos fisiológicos, é um neurotransmissor que suprime o apetite (KUROSE; TERASHIMA, 1999). A presença

de histamina no tecido nervoso inibe a liberação de noradrenalina no hipotálamo causando supressão da ingestão alimentar e causando uma ação anorética (MORIMOTO; YAMAMOTO; YAMATODANI, 2001).

Em condições usuais, o alimento é ingerido após a percepção da fome e tem sua ingestão finalizada quando a sensação de saciedade é atingida. Distintos sistemas são responsáveis pelo início e o término do consumo de alimentos. Esses sistemas são regulados por sinais de respostas oriundos do sistema nervoso central e periférico (que incluem o trato gastrointestinal, fígado, cérebro e sistemas sensoriais periféricos). A secreção hormonal pode ser afetada pela dieta que consequentemente influencia o comportamento. Após o consumo de uma refeição, o trato gastrointestinal parece ter maior participação na saciedade (estado do organismo no qual a alimentação é inibida, geralmente após alimentado) e no controle da duração da saciedade (BURTON-FREEMAN; GIETZEN; SCHNEEMAN, 1997).

Em ratos, a Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) é um eficiente método para analisar o comportamento alimentar (HALFORD; WANNINAYAKE; BLUNDELL, 1998; OLIVEIRA; SOUZA; MANHÃES-DE-CASTRO, 2011). A SCS foi utilizada pela primeira vez em 1975 como um modelo experimental para estudo da saciedade e é o nome dado às transições de medidas ordenadas de alimentação, atividade de limpeza e descanso durante o período pós-ingestão (HALFORD; WANNINAYAKE; BLUNDELL, 1998).

Embora uma redução ou um aumento na ingestão de alimentos reflita um efeito sobre o processo saciação/saciedade, a mensuração do consumo de alimento por si só não permite determinar se essas mudanças são devido a uma alteração de mecanismos fisiológicos que regulam a ingestão de alimentos, ou a efeitos não específicos (sedação, hiperatividade, náuseas, palatabilidade ou aumento da saciedade) (HALFORD; WANNINAYAKE; BLUNDELL, 1998).

A SCS é definida como uma forma mais rigorosa de observação contínua que permite que a verdadeira duração e a real frequência de cada comportamento possam ser determinadas. Observação contínua pode ser utilizada para determinar se os perfis associados com a redução da ingestão de alimentos são causados por náuseas, sedação, hiperatividade, ou alterada palatabilidade dos alimentos. Este

tipo de análise comportamental pode melhorar a compreensão do mecanismo psicológico e fisiológico envolvido na regulação do comportamento alimentar (HALFORD; WANNINAYAKE; BLUNDELL, 1998; OLIVEIRA et al, 2011). Em uma revisão da literatura, foi demonstrado que a SCS mostrou ser uma ferramenta sólida para estudar manipulações no comportamento alimentar (OLIVEIRA; SOUZA; MANHÃES-DE-CASTRO, 2011).

Estudos realizados com SCS mostraram influência da desnutrição perinatal (OROZCO-SÓLIS et al, 2009), do desmame precoce em ratos adultos (OLIVEIRA et al, 2011) e em função do ciclo de claro/escuro (TALLETT; BLUNDELL; RODGERS, 2009) sobre o comportamento alimentar precoce ou tardio.

Através dos estudos com SCS foi observado que a desnutrição proteica durante a gestação e lactação promove em prole jovem uma hiperfagia associada ao aparecimento tardio da saciedade, um aumento no tamanho da refeição e redução da latência para comer (tempo gasto para iniciar a alimentação). Em associação, os autores também encontraram no grupo desnutrido uma elevada expressão de peptídeos orexígenos (proteína Agouti e NPY) e uma redução na expressão de peptídeos anorexígenos (pró-opiomelanocortina) no hipotálamo. Em uma segunda avaliação da SCS aos 180 dias de vida, os ratos do grupo desnutrido persistiram com um maior tamanho de refeição comparado ao grupo controle, mas sem alteração na quantidade de alimentos consumidos diariamente (OROZCO-SÓLIS et al, 2009).

Oliveira et al (2011) estudando o efeito do desmame precoce em ratos adultos sobre o comportamento alimentar, observaram que o grupo desmamado precocemente (ao 15º dia de vida pós-natal) não exibiam alteração na ingestão de alimentos mas apresentaram atraso no disparo da saciedade quando comparado ao grupo desmamado mais tardiamente (30º dia de vida pós-natal).

A SCS também foi estudada segundo as fases de claro e escuro no ciclo 24hs (TALLETT; BLUNDELL; RODGERS, 2009). Ratos machos foram testados quanto a ingestão de alimentos e a SCS durante as fases clara e escura do ciclo e mostraram pouco impacto sobre a ingestão de alimentos ou outras medidas de comportamentos (alimentar ou não). Contudo, diferenças foram encontradas na locomoção, higiene e limpeza (maior na fase escura).

Portanto, este estudo teve como escopo avaliar os efeitos da restrição de alimento segundo a fase do ciclo claro/escuro e/ou da composição nutricional da dieta materna durante a gestação e lactação sobre o estado nutricional, ritmo alimentar, parâmetros metabólicos e aspectos do comportamento alimentar na prole de ratos adultos após a restrição de alimento.

3 HIPÓTESES

- A dieta ocidentalizada das mães durante a gestação e lactação causa excesso de peso e de gordura corporal, alterações no metabolismo e no comportamento alimentar dos descendentes machos;
- A restrição alimentar durante 8 horas da fase escura provoca nos descendentes machos adultos, aumento de peso corporal e de gordura abdominal, hiperglicemia e hiperlipidemia e, modificação da sequência comportamental de saciedade independentemente da dieta materna no período de gestação e lactação;

4 OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da dieta materna na gestação e lactação em descendentes machos que sofreram restrição alimentar nas primeiras 8 horas da fase escura do ciclo de 24 horas sobre o ritmo alimentar, parâmetros fisio-metabólicos e aspectos do comportamento alimentar.

4.2 .OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar em ratos adultos submetidos à restrição de alimento ou não, com modificação da composição dietética durante a vida perinatal ou não, os seguintes parâmetros:

- O padrão circadiano da alimentação;
- O estado nutricional ao longo do período experimental;
- A curva circadiana da glicose sanguínea e a tolerância oral à glicose antes e ao final de 8 semanas de restrição do alimento.
- A sequência comportamental de saciedade ao final de 8 semanas de restrição temporal do alimento.

5 MATERIAS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde (CCS) localizado na Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, e no Laboratório de Doenças Metabólicas e Nutricionais do Departamento de Medicina Veterinária, localizado na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

Todos os procedimentos experimentais descritos a seguir foram submetidos à análise e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) sob o número de protocolo 0036/2016 (ANEXO A) e estão conforme as resoluções e diretrizes determinadas pelo CONCEA (Conselho Nacional de Controle Experimentação Animal). Os animais foram mantidos em condições padrões para biotério sob temperatura de $22\pm1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de 60% e ciclo de luz invertido: fase clara (20:00 às 8:00h) e fase escura (8:00 às 20:00h).

5.1. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas 16 ratas fêmeas primíparas (Peso pré-gestacional $230\pm5\text{g}$), da linhagem *Wistar (Rattus norvegicus)*, e 8 ratos *Wistar* machos (Pesando $450\pm10\text{g}$) em idade fértil advindos da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE. Estes foram acasalados (proporção de duas fêmeas para um macho) e a gestação confirmada pela visualização de espermatozóides na secreção vaginal e aumento do peso corporal das fêmeas.

As matrizes foram pesadas e iniciaram a dieta ocidentalizada para o grupo experimental ou permaneceram na dieta padrão de biotério (dieta comercial) para o grupo controle assim que a gestação foi confirmada e desta forma prosseguiu-se até o final do período de lactação (21 dias de nascimento da prole). Após o nascimento, as ninhadas foram compostas por 8 filhotes (machos:fêmeas na proporção de 4:4 ou 4:3). Aos 22 dias de nascidos, estes filhotes provenientes destas fêmeas foram desmamados e alojados em gaiolas coletivas (4 animais por gaiola) de acordo com a

dieta recebida pelas genitoras. Após o desmame todos os filhotes passaram a receber dieta padrão de biotério.

Aos 30 dias de vida, os filhotes foram separados em gaiolas individuais para adaptação (antes do início do período experimental) e foram mantidos nesta condição ao longo de toda a pesquisa. Aos 60 dias de vida iniciou-se a fase experimental com restrição no tempo de alimentação ou não dos animais nas primeiras 8 horas da fase escura do ciclo (a partir das 8:00 horas da manhã, Zeitgeber = 12 às 16:00 horas da tarde, Zeitgeber = 20) por um período de 60 dias (120 dias de vida dos animais). Assim, obteve-se um total de quatro grupos de ratos machos (9-12 em cada), recebendo dietas *ad libitum* nas fases claro e escuro do ciclo ou tendo sua ração restrita nas primeiras 8 horas da fase escura do ciclo. O desenho esquemático encontra-se abaixo delineado (**Figura1**). Os nomes dos grupos foram estabelecidos em função da dieta utilizada na gestação e lactação e da variável restrição do horário da dieta.

Foram utilizados 42 ratos adultos da linhagem *Wistar*, advindos das matrizes acima citadas que compuseram os grupos: (**C, n=9**) = grupo controle por todo o período experimental; (**Cr, n=10**) = grupo controle com dieta privada por 8 horas diárias a partir dos 60 dias de vida; (**O, n=11**) = grupo com dieta ocidentalizada durante a vida perinatal e padrão de biotério pós desmame; (**Or, n=12**) = grupo com dieta ocidentalizada durante a vida perinatal e padrão de biotério pós-desmame com dieta restrita por 8 horas diárias a partir dos 60 dias de vida. O cronograma experimental encontra-se descrito na **tabela 1**.

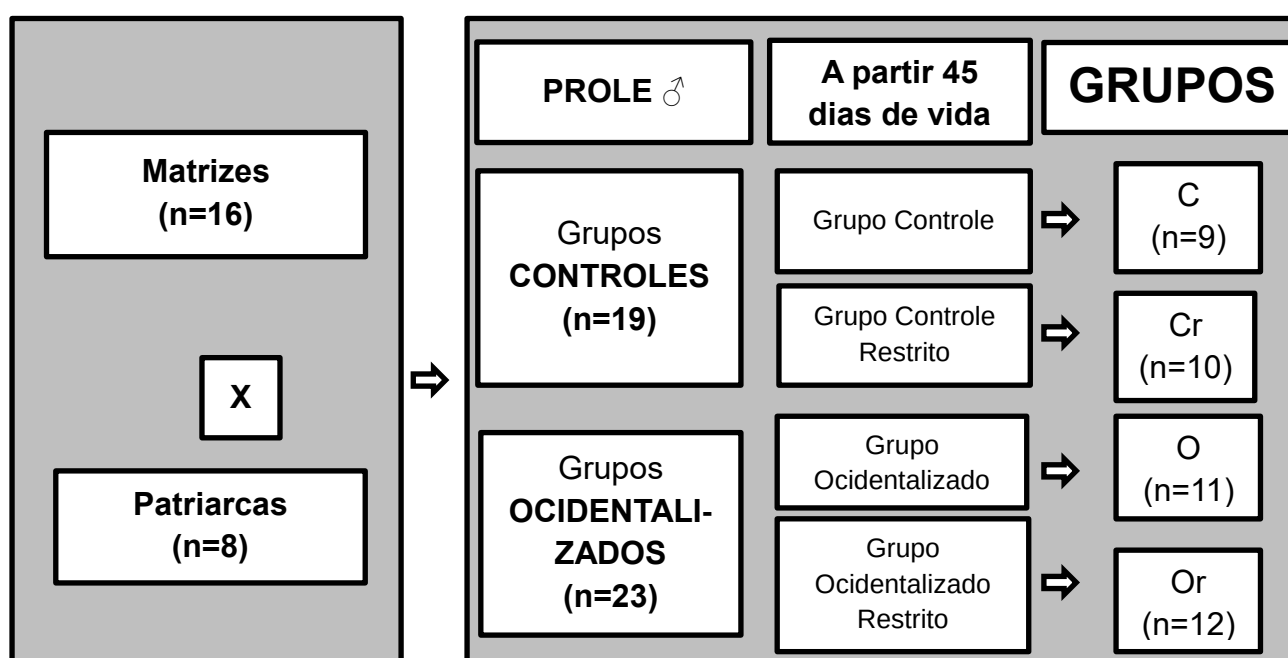


Figura 1- Desenho experimental do estudo segundo dietas, período e grupos formados. C- Grupo Controle; Cr- Grupo Controle com Restrição do alimento a partir dos 60 dias de vida; O- Grupo Dieta Ocidentalizada durante o período perinatal; Or- Grupo Dieta Ocidentalizada durante o período perinatal com Restrição do alimento a partir dos 60 dias de vida.

Tabela 1. Cronograma de execução experimental

DIAS DE VIDA DO ANIMAL	EVENTO
22 DIAS	Desmame/ a partir de então todos os animais foram alimentados com ração padrão de biotério
30 DIAS	Animais separados em gaiolas individuais
45 DIAS	Início do período experimental (TOTG, Glicemia e consumo 4 em 4h)
±60 DIAS	Início da restrição de ração para os grupos Cr e Or (das 8 horas da manhã às 16 horas)
±120 DIAS	Início dos experimentos finais pós-intervenção (TOTG, Glicemia e consumo 4 em 4 horas, SCS) e eutanásia.

5.2. COMPOSIÇÃO E HORÁRIO RESTRIÇÃO DA DIETA

As matrizes do grupo controle receberam dieta padrão de biotério® (23% de proteína e 3,6 kcal/g- **Tabela 2**) durante toda a vida. As matrizes do grupo ocidentalizado receberam dieta padrão de biotério até o diagnóstico da gestação, e após a constatação da prenhez, estas passaram a receber a dieta experimental “ocidentalizada” formulada a partir da adaptação do estudo de Cavalcante et al (2013), até o final do período de lactação (21 dias pós-parto).

Após o desmame (a partir do 22º dia de vida da prole), todos os filhotes passaram a receber dieta padrão de biotério *ad libitum*. A partir do 60º dia de vida os grupos controle (C) e ocidentalizado (O) se alimentaram *ad libitum* por todo o ciclo

de 24 horas e grupos controle (Cr) e ocidentalizado (Or) que apesar de ter a dieta disponibilizada, tiveram uma restrição temporal alimentar, ou seja, a dieta foi ofertada ao animal após 8 horas de iniciado o ciclo escuro, sendo oferecida à vontade até o horário de 8 horas da manhã do dia seguinte. A quantidade de ração ofertada aos grupos restritos foi a mesma dos grupos controle e ocidentalizados. O consumo alimentar (g) foi obtido pela diferença entre a quantidade de alimento oferecido e o rejeitado.

A ração ofertada durante todo o período experimental foi o preconizado pelo American Institute of Nutrition-93 (AIN-93), sendo a contribuição dos macronutrientes, em relação ao valor energético total - **tabela 2**. A dieta experimental ocidentalizada foi baseada na AIN-93 para crescimento (AIN-93G).

Tabela 2. Composição de macronutrientes segundo o Valor energético total (VET) da dieta ocidentalizada baseada na AIN-93 para roedores e da dieta comercial.

DIETAS*	PROTEÍNA (%kcal VET)	CARBOIDRATO (%kcal VET)	LIPÍDIO (%kcal VET)	VET (kcal/g)
Ocidentalizada (crescimento)	21	45	34	4,6
Comercial	26	63	11	3,6

*Os cálculos da composição centesimal da dieta ocidentalizada foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos e na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). A análise da composição centesimal final das dietas é realizada pelo Laboratório de Experimentação e Análise de alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição da UFPE. Das fontes de carboidratos totais, 22% corresponderam à frutose

Tabela 3. Composição centesimal da dieta experimental ocidentalizada

Constituintes (g%)	Dieta ocidentalizada (crescimento)
Amido de milho	8,00
Ração comercial de biotério	8,00
Biscoito tipo maisena de chocolate	5,00
Farinha de soja	3,00
Caseína	20,00
Celulose	2,00
Óleo de milho	-
Óleo de soja	4,00
Banha	5,0

Manteiga com sal	3,00
Margarina (85% lipídio)	4,00
Creme de leite (20% lipídio)	4,00
Frutose	10,00
Açúcar	15,00
Sais – mix mineral	2,50
Vitaminas	0,70
Colina	0,25
Metionina	0,25
BHT (butil hidroxitolueno) = 0,14mg	0,0014
NaCl (39,34% de Na)	0,30
Glutamato Monossódico (12,3% de Na)	1,00
% Kcal	406,87

Fonte: o autor, adaptado de Cavalcante et al, (2013).

PROCEDIMENTOS

5.3. AVALIAÇÃO DO PESO

A aferição do peso corporal foi realizada semanalmente desde o desmame até o final período do experimental. O procedimento foi realizado na balança eletrônica digital, marca Marte XL 500, classe II, capacidade máxima 500g (menor divisão 0,001g).

5.4. CONSUMO ALIMENTAR E CURVA GLICÊMICA

A quantificação da ingestão alimentar foi realizada a cada 4 horas do ciclo de 24 horas. O animal, previamente ambientado, foi acompanhado durante 4 dias e a média do registro de 4 dias consecutivos foi analisada (**Figura 2**). Dessa forma, foi obtido o padrão de consumo circadiano e o total de ração consumida em cada fotoperíodo dos grupos com dieta padrão *ad libitum* e com restrição temporal de alimento na fase escura do ciclo (ao término do período de 8 semanas com a restrição de alimento).

Em paralelo, foi realizada a curva circadiana da glicose durante 1 dia em todos os grupos nos mesmos intervalos de tempo (a cada 4 horas) de controle do consumo alimentar após o período de restrição de alimentos.

O consumo circadiano da alimentação e a curva glicêmica a cada 4 horas, foi utilizado para observar a associação entre ritmicidade alimentar e glicêmica (NASCIMENTO et al, 2013) em função do ciclo e da restrição de alimento antes e após o período de restrição de alimentos.

A ritmicidade foi medida através de um ciclo ambiental (*zeitgeber*) que pode corresponder ao horário que as luzes acendem ou apagam durante o período de 24 horas. Para fins de compreensão do temporizador externo, os *Zeitgebers* serão denominados segundo os fusos horários dos ciclos, começando ZT0 no primeiro intervalo do período da fase clara do ciclo.

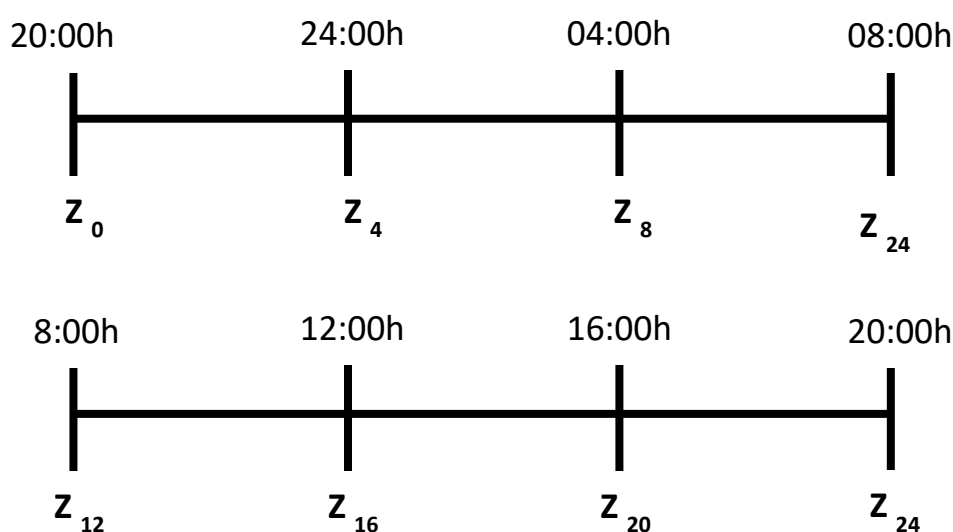


Figura 2 – Esquema de avaliação do padrão circadiano da curva da glicemia e do consumo alimentar dos animais experimentais.

5.5. TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE

O teste oral de tolerância à glicose (TOTG) foi realizado entre os dias 45 e 60 dias de vida antes período de restrição de alimento, e entre os dias 120 e 130 de vida, ao final do período de restrição do alimento, no fotoperíodo claro e escuro em

todos os grupos. O animal foi submetido a um jejum de 6 horas (iniciado no Zeitgeber 12, para a fase escura do ciclo e no Zeitgeber 0, para a fase clara) e, após esse período, foi coletada a primeira amostra de sangue (tempo 0) para dosagem da glicose basal com uso do aparelho *Accu-Check Performa*®. Posteriormente, foi administrado por gavagem uma solução de glicose a 50%, na dosagem de 2mg/g de peso do animal para o teste de tolerância oral à glicose (ANDRIKOPOULOS et al, 2008) e a glicemia obtida nos tempos 30, 60, 90 e 120min. Foi calculada a área sob a curva de glicose (ΔG) por meio do método trapezoidal (LE FLOCH et al, 1990).

5.6 TESTE COMPORTAMENTAL: SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DE SACIEDADE

O comportamento alimentar foi mensurado através da Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) determinada por Halford, Wanninayake e Blundell (1998). Os animais foram submetidos ao teste comportamental (SCS) após o período de restrição de alimentação de 8 horas diárias (do Zeitgeber 12 ao Zeitgeber 20) durante 8 semanas quando os animais apresentavam uma média de 120 dias de vida.

A metodologia utilizada para realização da SCS consiste em colocar o animal em uma gaiola transparente para observação permitindo a plena expressão da sequência. Para a realização do teste, os animais foram mantidos em gaiolas individualizadas transparentes em restrição alimentar por 2 horas (iniciada às 08:00 horas da manhã) na fase escura do ciclo, a partir de metodologia adaptada de Halford, Wanninayake e Blundell (1998) antes da oferta de alimento com peso determinado. Pesos do animal e da ração foram realizados antes, e, ao final de cada sequência (após 1 hora de observação). Os ratos foram monitorados sob luz vermelha de baixa intensidade na fase escura do fotoperíodo de 24 horas (HALFORD; WANNINAYAKE; BLUNDELL, 1998). A SCS foi registrada em formulário próprio (**Apêndice A**) por um observador treinado que quantificou a duração (em segundos) dos seguimentos comportamentais:

- **Alimentação:** registro iniciado quando o rato aproxima-se do comedouro e inicia a ingestão de ração. A finalização foi determinada no momento em que o rato abandona o comedouro.
- **Limpeza:** o início do registro foi quantificado quando o rato lambeu as patas anteriores e os movimentos dessas sobre a cabeça, bem como a continuidade de lambe-se na região ventral, dorso e patas posteriores.
- **Repouso/Descanso:** quantificado o tempo que o rato ficou em posição de descanso, com o corpo repousando sobre o assoalho da gaiola.
- **Atividade de exploração:** caminhando ao redor da gaiola ou circulando; movimentos envolvendo os quatro membros. Este dado foi obtido a partir da soma dos demais comportamentos subtraído do total de 300 segundos em cada um dos 12 subperíodos de observação.

Após registro de uma hora de SCS foram obtidas medidas complementares, como duração, frequência, tempo médio de ingestão de alimento, tamanho da refeição (g/kg de peso corporal) e velocidade ou taxa de ingestão tanto em kcal/min quanto em g/min.

- Medida do consumo alimentar: obtida entre a diferença do peso da quantidade de ração oferecida e rejeitada (g) durante o período de uma hora de registro da SCS.
- Taxa de alimentação: foi determinada a partir da relação entre a quantidade total de alimento ingerida pelo tempo de registro de alimentação (g/min).

5.7 AVALIAÇÃO POST-MORTEM

Após a realização da SCS no período de restrição alimentar, entre os 130 e 140 dias de vida, os animais foram submetidos à eutanásia. Após jejum entre 12 e 14 horas, os animais foram sacrificados por excesso de anestésico (Ketamina, 40mg/kg e Xilazina, 5mg/kg), para realização de uma laparotomia mediana.

5.7.1. Determinação do perfil bioquímico e hematológico

Após a aplicação dos anestésicos, uma incisão vertical na região abdominal foi realizada para obtenção de amostras sanguíneas (5mL), através de punção intracardiaca, para determinação das variáveis bioquímicas [Glicemia de jejum, colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL), Aspartato aminotransferase (AST) e Alanina aminotransferase (ALT) e Creatinina].

A amostra sanguínea foi centrifugada a 2500g/ 20 min para obtenção do soro e, em seguida armazenada em freezer, a -20°C, para posterior análise. As análises bioquímicas foram realizadas no Departamento de doenças metabólicas e nutricionais da Universidade Federal Rural de Pernambuco, através do uso de um analisador automático Labmax 400® e reagentes labtest®.

5.7.2. Avaliação de peso úmido de órgãos e gordura abdominal

O fígado e gordura abdominal foram pesados em balança digital de precisão Marte® AL200, com capacidade máxima de 200g e variação de 0,01g.

5.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A análise estatística e construção dos gráficos foram realizadas no software *Graphpad Prism*® 5.0 e os resultados obtidos expressos em média $\pm$ desvio padrão.

A normalidade dos dados foi verificada a partir do teste de Kolmogorov Smirnov e a significância considerada foi de $p < 0,05$. Para análises intragrupo, antes e depois de uma intervenção, foi utilizado o teste “t” de Student pareado. Para análise de peso corporal e consumo alimentar tendo a restrição de alimento e o tempo como cofatores, foi usada a Análise de variância (ANOVA) *two-way* de medidas repetidas (repeated measure, RM), seguido do pós-teste de Bonferroni quando observada diferença entre os grupos. Para análises com apenas uma variável, foi utilizada a Análise de variância (ANOVA) *one-way* seguida do pós-teste de Tukey quando detectada diferença entre os grupos. Considerado para fins estatísticos o nível de significância $p \leq 0,05$ (5%).

6 RESULTADOS

6.1. MASSA CORPORAL DURANTE A LACTAÇÃO

À análise do peso corporal ao nascer, observou-se que houve uma diferença estatisticamente significativa quando comparado o grupo advindo de mães com dieta controle aos filhotes de mães que consumiram dieta ocidentalizada, tendo essa prole apresentado peso 11,4% (Tabela 4) menor do que a ninhada provinda de matrizes com dieta padrão de biotério durante a gestação. À aferição da massa de peso corporal ao vigésimo-primeiro dia, não apontou diferenças estatísticas significantes.

Tabela 4. Peso ao nascer e ao desmame de ratos submetidos à dieta ocidentalizada na vida perinatal

	Dia do nascimento (dia 0)		Dia do desmame (dia 21)	
	Prole controle	Prole ocidentalizada	Prole controle	Prole ocidentaliza
Peso (g)	6,2 ($\pm 0,16$)	7* ($\pm 0,48$)	49,96 ($\pm 5,9$)	51,56 (2,7)

ANOVA *one-way* seguida do teste de Bonferroni. * vs O ($p < 0,05$). Valores expressos em média e desvio padrão da média.

6.2. CURVA GLICÊMICA ANTES DO PERÍODO DE RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO

A obtenção da curva glicêmica (Figura 3) dos grupos antes do período de restrição temporal de alimento, realizada em intervalos a cada 4h, não mostrou diferenças estatísticas.

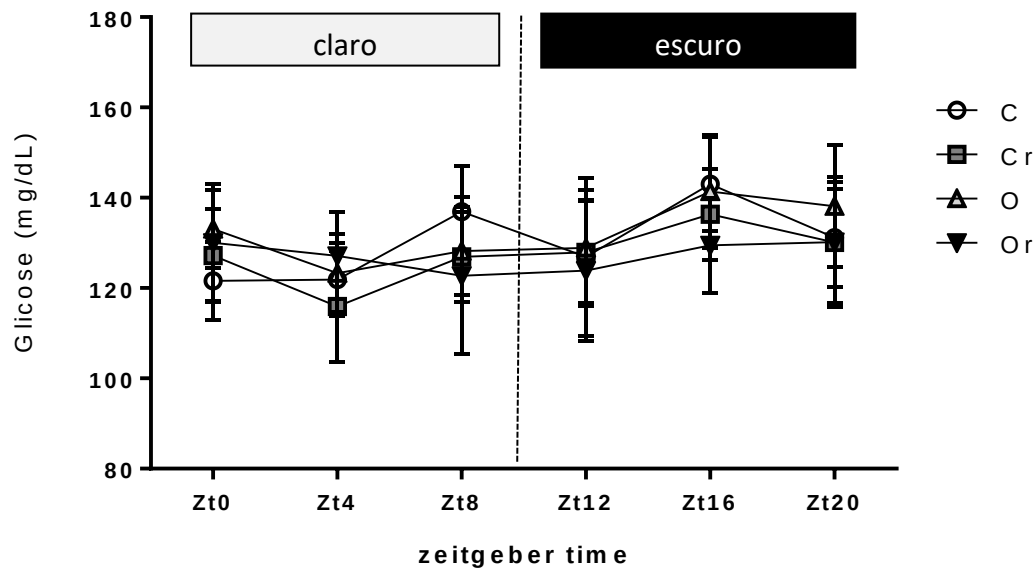
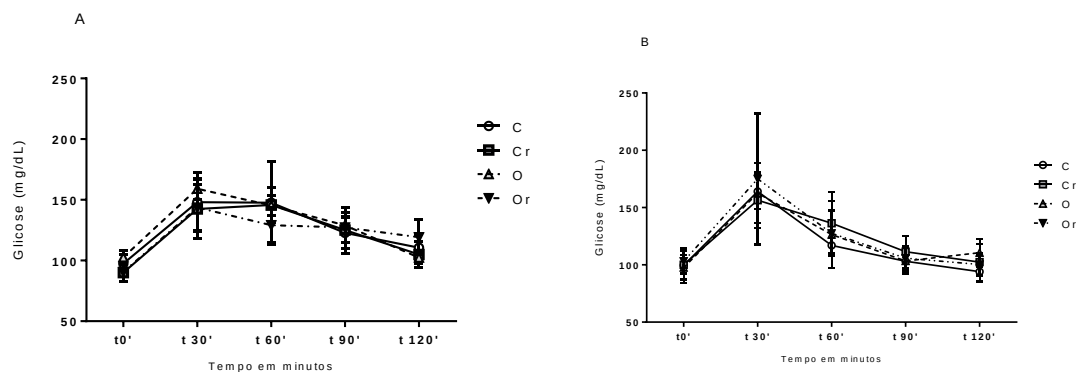


Figura 3- Curva glicêmica de 4 em 4 horas antes da privação de alimento (45 a 60 dias de vida): Grupos: C = Grupo Controle (círculo aberto); Cr = Grupo Controle com restrição temporal de alimento (quadrado cinza); O = Grupo Dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação (triângulo cinza claro); Or = Grupo Dieta Ocidentalizada Durante a Gestação e Lactação com restrição temporal de alimento (triângulo invertido escuro). ANOVA two way seguido de teste de Bonferroni.

6.3. TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA A GLICOSE (TOTG) ANTES DO PERÍODO DE RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO

A partir do teste oral de tolerância à glicose, realizado antes do período de restrição temporal do alimento, na fase clara (Figura 4A) e na escura (Figura 4B) do ciclo de 24 horas, foi observado que não existem diferenças entre os grupos.



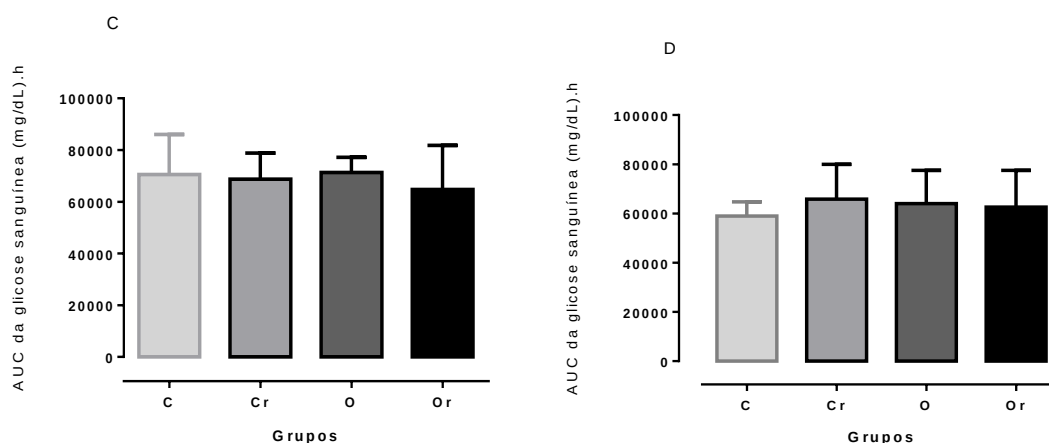


Figura 4- Teste oral de tolerância à glicose (TOTG, A e B) e área sob a curva de glicose intergrupos segundo a fase de claro (C) e de escuro (D). Grupos: C = Grupo Controle claro (círculo aberto); Cr = Grupo Controle com restrição temporal de alimento claro (quadrado fechado); O = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação claro (triângulo claro); Or = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação com restrição temporal de alimento claro (triângulo invertido escuro). (B) Grupos: C = Grupo Controle escuro (círculo aberto); Cr = Grupo Controle com restrição temporal de alimento escuro (quadrado fechado); O = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação escuro (triângulo claro); Or = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação com restrição temporal de alimento escuro (triângulo invertido escuro). ANOVA *two way* medidas repetidas para TOTG e ANOVA *one way* para área sob a curva, seguido do pós-teste de Bonferroni. ($p < 0,05$).

6.4. RITMO ALIMENTAR ANTES DO PERÍODO DE RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO

Na figura 5, pode-se observar que não houve diferença no ritmo de consumo de alimentos a cada 4 horas ao longo de 24 horas entre os grupos estudados. Todos os grupos seguiram o padrão circadiano de alimentação com picos de ingestão alimentar no Zt12, fase correspondente ao início da fase escura e no Zt20, fase que corresponde ao final da fase escura do ciclo de 24h.

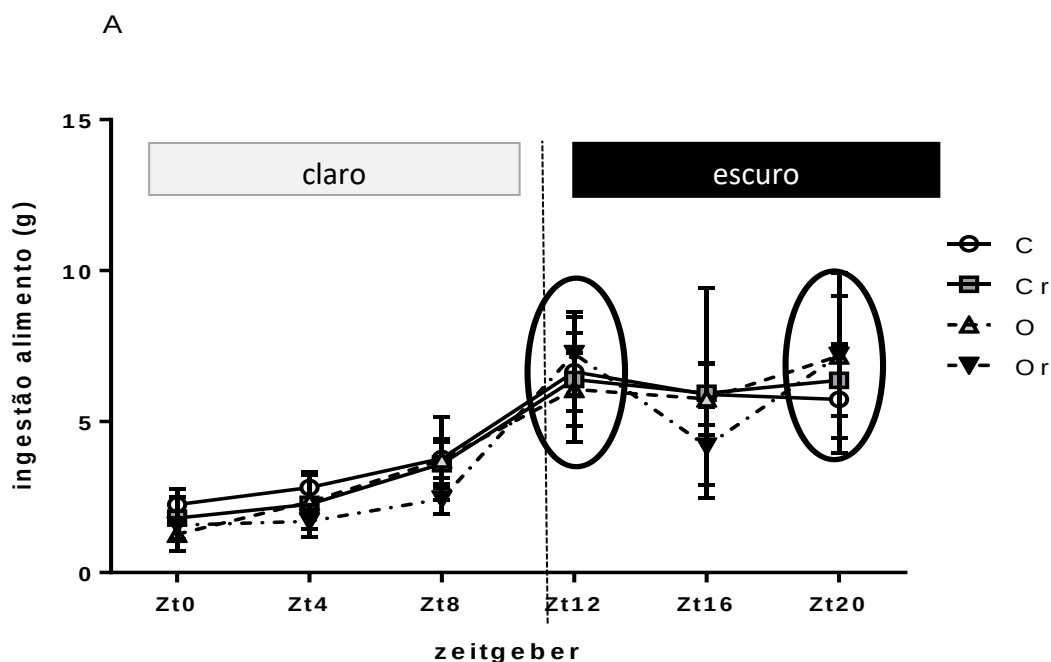


Figura 5- (A) Média da Ingestão alimentar a cada 4 horas ao longo de 4 dias segundo dieta durante a gestação e lactação e restrição temporal da ração. Grupos: C = Grupo Controle (círculo aberto); Cr = Grupo Controle com restrição temporal de alimento (quadrado escuro); O = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação (triângulo claro); Or = Grupo Dieta Ocidentalizada durante a Gestação e Lactação com restrição temporal de alimento (triângulo escuro invertido). ZT0= 1ª hora do claro (20-24h); ZT4= 2ª hora do claro (24-04h); ZT8= 3ª hora do claro (04-08h); ZT12= 1ª hora do escuro (8-12h); ZT16= 2ª hora do escuro (12-16h); ZT20= 3ª hora do escuro (16-20h). Valores representados em média e desvio padrão da média;

6.5. MASSA CORPORAL E CONSUMO ALIMENTAR DURANTE O PERÍODO DE RESTRIÇÃO TEMPORAL DE ALIMENTO

A avaliação do acompanhamento da massa corporal revelou que o grupo Ocidentalizado sem restrição apresentava maior peso que o controle a partir da 7ª semana de acompanhamento, e, que o grupo Or mostrou menor peso que o grupo O apenas na 8ª semana. (Figura 5).

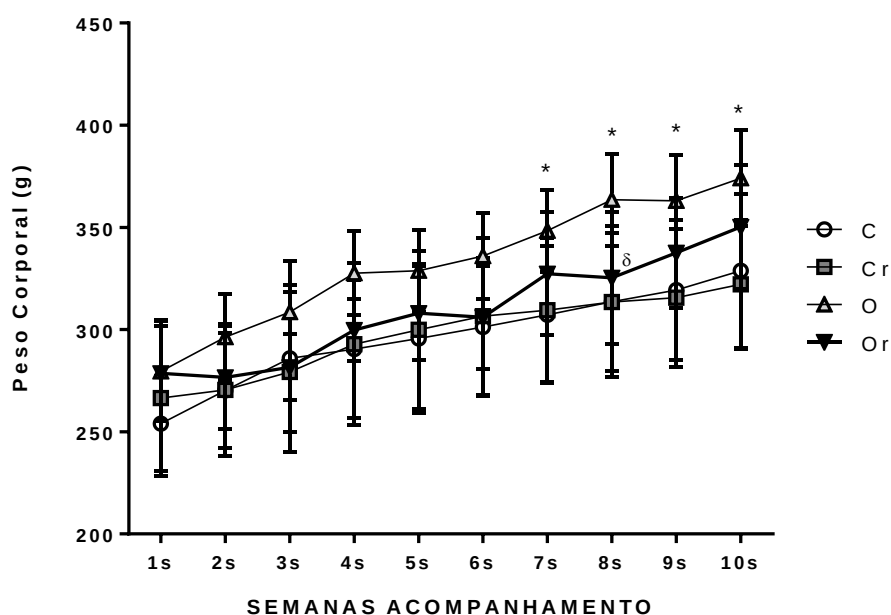


Figura 5- Evolução ponderal do peso corporal durante o período experimental Grupos: C = Grupo Controle (círculo aberto); Cr = Grupo Controle com restrição temporal do alimento (quadrado cinza); O = Grupo Dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação (triângulo cinza claro); Or = Grupo Dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação com restrição temporal de alimento (triângulo invertido escuro). ANOVA two way seguido de teste de Bonferroni. * vs grupo controle ^δ vs grupo O

O controle da ingestão de alimentos durante o período de restrição temporal de ração demonstra que os grupos restritos não aumentaram seu consumo na fase clara do ciclo (6A) mostrando-se semelhante aos grupos não restritos, e, como esperado tem reduzida ingestão na fase escura do ciclo (6B), o que culmina em menor consumo diário de alimento quando comparado aos respectivos controles sem restrição (6C). Não foram observadas diferenças de ingestão de alimento entre os grupos C vs O e entre o Cr vs Or.(C).

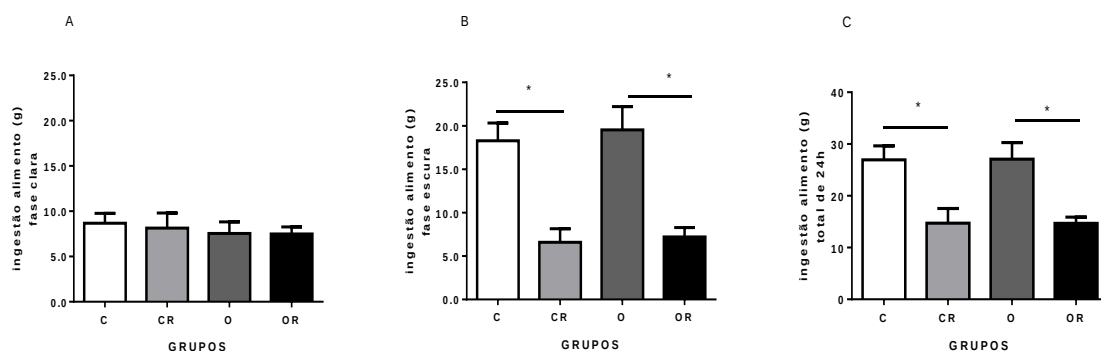


Figura 6- ingestão alimentar por fase (clara ou escura) ao final do período da restrição alimentar. (A) ingestão alimentar fase clara; (B) ingestão alimentar fase escura; (C) Ingestão alimentar total de 24 horas. Grupos: C = Grupo Controle (barra branca); Cr = Grupo Controle com restrição temporal do alimento (barra cinza clara); O = Grupo Dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação (barra cinza escura); Or = Grupo Dieta Ocidentalizada com restrição temporal do alimento (barra preta). ANOVA *one way* seguido do pós-teste de Bonferroni. ($p < 0,05$). *vs C ou O;

6.6. CURVA GLICÊMICA AO FINAL DO PERÍODO 8 SEMANAS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR TEMPORAL

A obtenção da curva glicêmica de um ciclo de 24h (figura 7) nos permitiu observar que tanto os grupos com dieta *ad libitum* (comercial e ocidentalizada), quanto os grupos restritos não diferem na fase clara do ciclo (Zt0 a Zt8). A partir da fase escura do ciclo (Zt12), foi observada menor glicemia do grupo Cr comparado ao C por todo o período (Zt12, Zt16 e Zt20), bem como do grupo O em Zt16 e Zt20 e do grupo Or em Zt12 e Zt16.

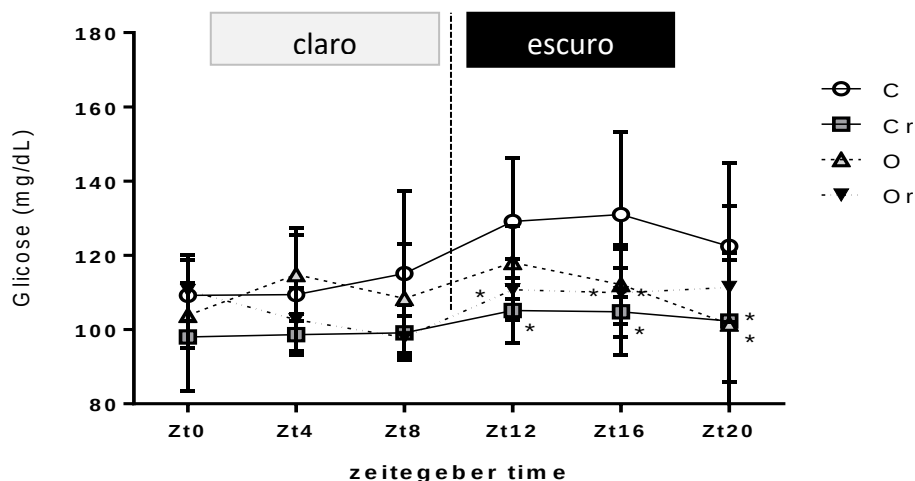


Figura 7- Curva glicêmica de 4 em 4 horas no período de privação de alimento: Grupos: C = Grupo Controle (círculo aberto); Cr = Grupo Controle com restrição temporal de alimento (quadrado cinza); O = Grupo Dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação (triângulo claro); Or = Grupo Dieta Ocidentalizada Durante a Gestação e Lactação com restrição temporal de alimento (triângulo invertido escuro). ANOVA two way seguido de teste de Bonferroni.*vs C.

6.7. RITMO ALIMENTAR AO FINAL DO PERÍODO DE RESTRIÇÃO ALIMENTAR TEMPORAL

Ao se avaliar o ritmo alimentar, observou-se menor consumo de Cr comparado ao C por toda a fase escura (Zt12, Zt16 e Zt20), bem como do grupo Op nos mesmos intervalos (Zt12, Zt16 e Zt20) tanto comparado ao C quanto ao O. Entre Cr e Or não se observaram diferenças na ingestão. (Figura 8). Para os grupos restritos, era esperada a diferença em Zt12 e Zt16 visto que estão sem acesso ao alimento. E, tanto o Cr quanto o Or ingerem respectivamente 29% e 22% a mais no Zt20 que seus pares não restritos. (Figura 8)

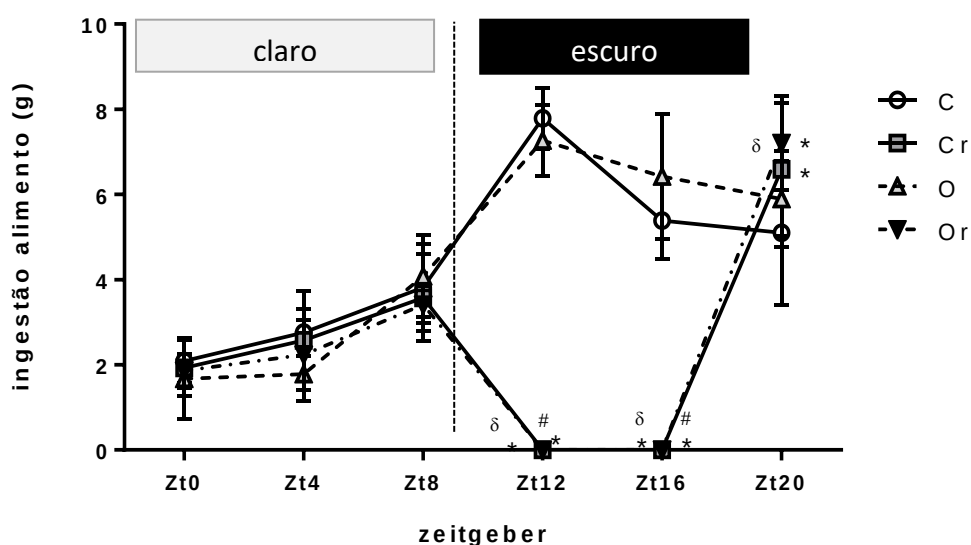


Figura 8- Ingestão alimentar a cada 4 horas ao longo de 4 dias segundo dieta durante a gestação e lactação e ao final de 8 semanas de privação de alimento. Grupos: C = Grupo Controle (círculo aberto); Cr = Grupo Controle com restrição temporal de alimento (quadrado escuro); O = Grupo Dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação (triângulo claro); Or = Grupo Dieta Ocidentalizada durante a Gestação e Lactação com restrição temporal de alimento (triângulo escuro invertido). ZT0= 1ª hora do claro (20-24h); ZT4= 2ª hora do claro (24-04h); ZT8= 3ª hora do claro (04-08h); ZT12= 1ª hora do escuro (8-12h); ZT16= 2ª hora do escuro (12-16h); ZT20= 3ª hora do escuro (16-20h). Valores representados em média erro padrão da média; *vs grupo C; #vs grupo Cr; ^δvs grupo O;

6.8. TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE DURANTE PERÍODO DE RESTRIÇÃO ALIMENTAR TEMPORAL

A partir do Teste oral de tolerância à glicose realizado na fase clara (9A) e na fase escura (9B) do ciclo de 24 horas após 8 semanas de restrição alimentar temporal (Figura 9), não se observou diferenças entre os grupos na fase escura, mas, foram observadas diferenças na fase clara. Após 60 minutos da administração da carga de glicose o grupo Or mostrou reduzidos valores comparados ao O e ao C. Aos 90 minutos o grupo Or foi menor que o grupo O e este maior que o grupo C. Os grupos Cr e Or não diferiram entre si. Aos 60 e 90 minutos o grupo O foi maior que Cr e, o Or foi menor que o C aos 60 minutos. (Figura 9B).

Quando observada a área sob a curva de glicose (Figura 10 C,D) na fase clara do ciclo de 24 horas, notou-se uma diferença significativa do grupo O, quando comparado aos grupos Cr e Or. Na fase escura, não houve alteração em relação a área sob a curva.

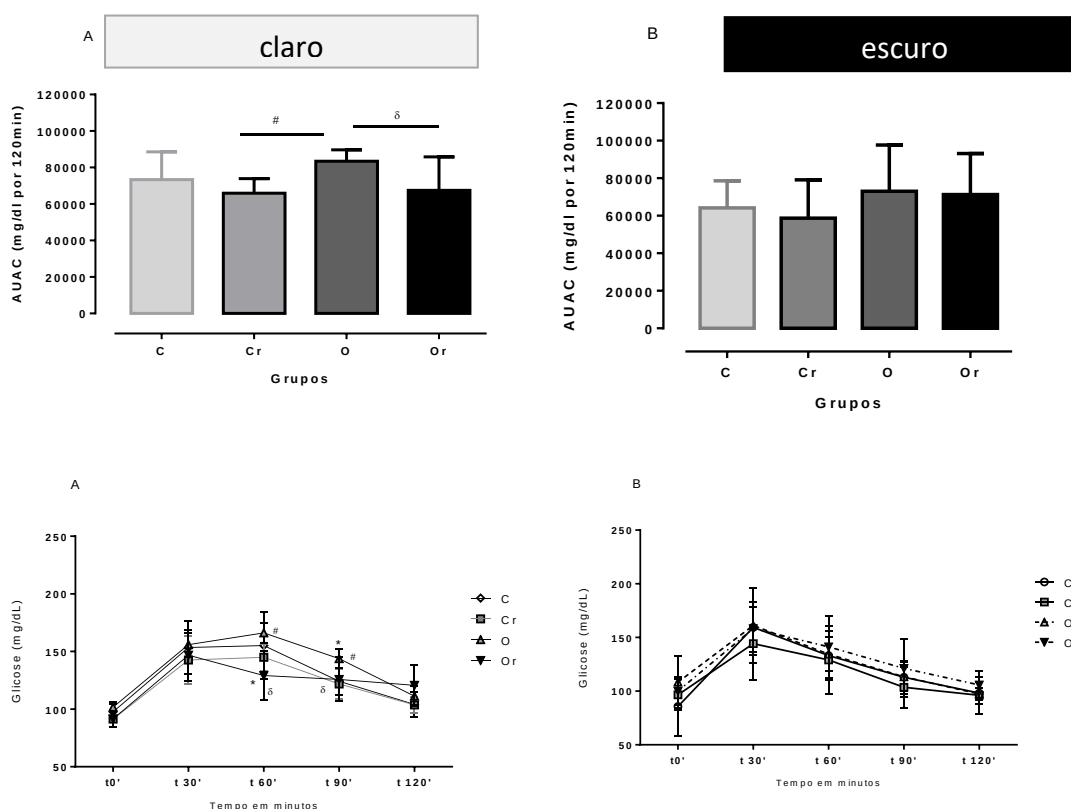


Figura 9- (A,B)Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e (C,D) área sob a curva de glicose intergrupos segundo a fase de claro (A,C) e de escuro (B,D). (A) Grupos: C = Grupo Controle claro (círculo aberto); Cr = Grupo Controle restrição temporal do alimento claro (quadrado fechado); O

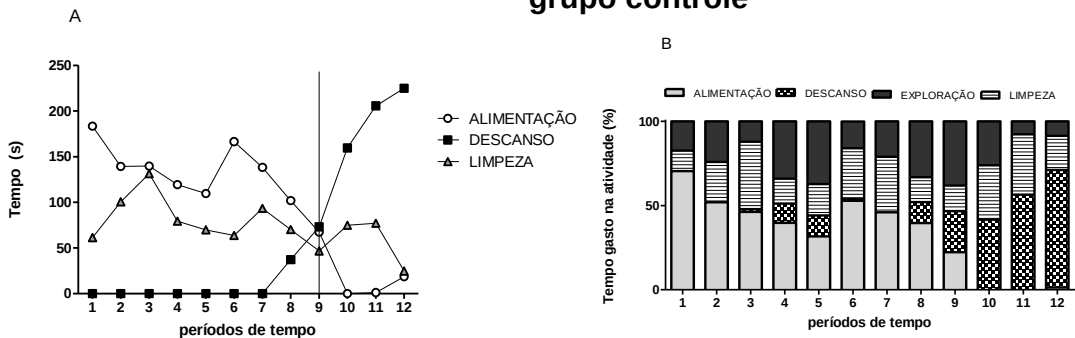
= Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação claro (triângulo claro); Op = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação com restrição temporal de alimento claro (triângulo invertido escuro). (B) Grupos: C = Grupo Controle escuro (círculo aberto); Cr = Grupo Controle com restrição temporal de alimento escuro (quadrado fechado); O = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação escuro (triângulo claro); Or = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação com restrição temporal de alimento escuro (triângulo invertido escuro). ANOVA *two way* medidas repetidas para TOTG e ANOVA *one way* para área sob a curva seguido do pós-teste de Bonferroni. ($p < 0,05$). A = * VS Controle ; #vs Cr; ^δvs O (C # O aos 90min; C # Or aos 60min; Cr # O em 60 e 90min; O#Or em 60 e 90min; #O # Cr ; ^δOr#O.

6.9. SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DA SACIEDADE

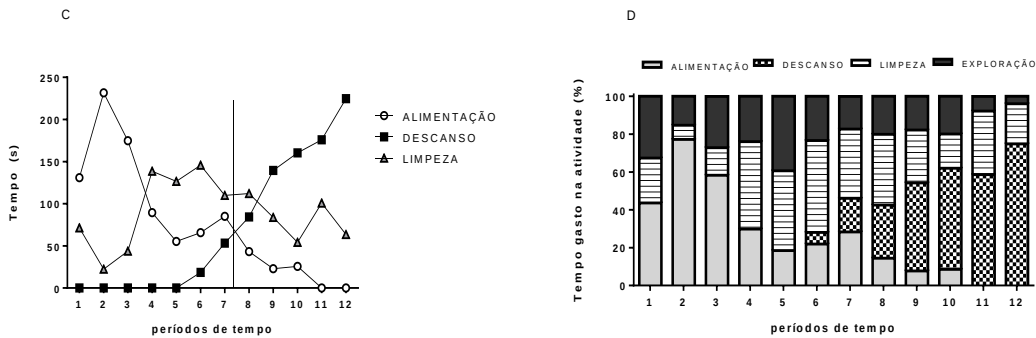
Com a finalidade de avaliar se a manipulação nutricional no início da vida com e/ou a restrição de alimento na fase escura altera o padrão de frequência, tamanho, duração de refeição, etc., foi utilizada em um único momento a SCS para verificar a natureza do comportamento alimentar durante 1 hora de observação. Foi observado que a restrição de alimentos e/ou a dieta materna não causou perda da estrutura natural do comportamento alimentar caracterizada por um estado inicial de alimentação seguido de uma transição entre períodos de descanso intermediados por comportamentos de limpeza e exploração (figura 10). Contudo, comparando Cr com C observa-se um adiantamento no disparo da saciedade (Figura 10 C e D) com estes animais ingerindo uma menor quantidade de alimento/energia por kg de peso corporal e uma menor taxa ou velocidade de alimentação (Tabela 5).

O grupo O e Or, cujas mães receberam dieta ocidentalizada na gestação e lactação mostraram evidente adiantamento do disparo de saciedade (10 E e F), maior taxa de alimentação e menor duração do tempo de alimentação comparados ao controle, o que demonstra uma maior velocidade de ingestão sem diferenças na quantidade de energia ingerida (Tabela 5). Mas, a restrição temporal do grupo Or comparado ao grupo O causou um retardo do ponto de saciedade, mas não alterou os demais parâmetros avaliados. Os descendentes de mães com dieta ocidentalizada na vida perinatal mostraram independente da restrição, consistente alteração do comportamento alimentar comparado ao controle. Assim pode-se inferir que a dieta ocidentalizada materna por si modifica em longo prazo o comportamento alimentar dos descendentes, e, que a restrição temporal de alimento foi mais agressiva a mudanças de comportamento alimentar no grupo com dieta controle do que no grupo alimentado com dieta ocidentalizada.

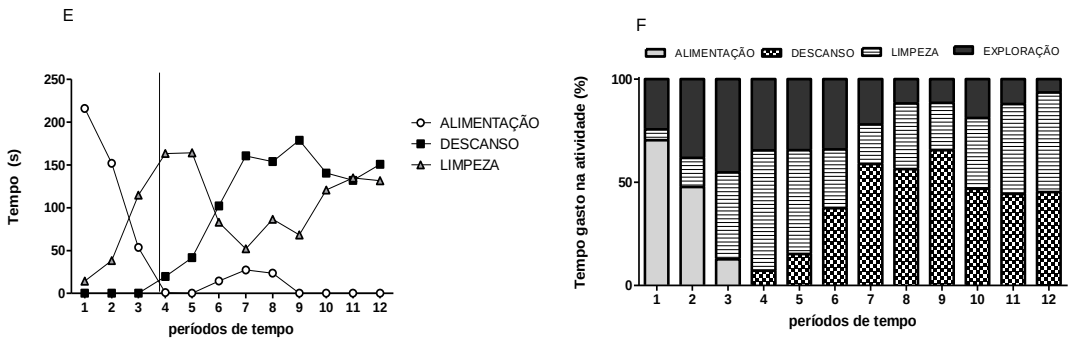
grupo controle



grupo controle restrito



grupo ocidentalizado



grupo ocidentalizado restrito

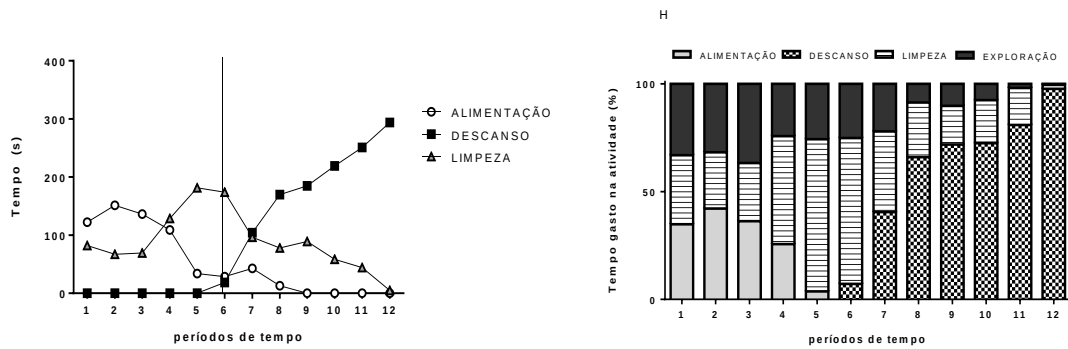


Figura 10- Sequência comportamental de saciedade de ratos adultos oriundos de mães expostas à dieta ocidentalizada ou controle na gestação e lactação e com privação temporal de alimento. Os períodos correspondem aos 12 intervalos de tempo de 5 minutos que compõem o teste. As colunas representam a proporção do número total de observações de comportamento por cada intervalo de tempo. C = (AB) Grupo Controle; Cr = (CD) Grupo Controle com restrição temporal do alimento; O = (EF) Grupo Dieta Ocidentalizada na gestação e lactação; Or = (GH) Grupo Dieta Ocidentalizada na gestação e lactação com restrição temporal do alimento.

Tabela 5. Parâmetros da microestrutura da refeição de ratos adultos oriundos de mães expostas à dieta ocidentalizada ou controle na gestação e lactação e com restrição temporal de alimento

		C	Cr	O	Or
Tamanho da refeição	(kcal/kg de peso)	65,33 (±15,81)	46,15 (±15,91)	50,00 (±19,8)	67,46 (±9,78)
Taxa de alimentação	(kcal/min)	1,14 (±0,24)	1,03 (±0,28)*	2,30 (±0,57)*	3,63 (±0,69)*
	(g/min)	0,31 (±0,06)	0,28 (±0,08)*	0,63(±0,16)*	1,00 (±0,19)*
Duração da Refeição	(min)	18,97 (5,48)	15,41 (6,15)	6,54 (2,84)*	7,14 (1,43)*

Grupos: C = Grupo Controle (n=9); Cr = Grupo Controle com restrição temporal do alimento(n=10); O = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação (n=11); Or = Grupo dieta Ocidentalizada durante a gestação e lactação com restrição temporal do alimento (n=7). ANOVA *one way* para tamanho da refeição e duração da refeição seguido do pós-teste de Tukey (p<0,05).

6.10. ANÁLISES DE PARAMETROS BIOQUÍMICOS *POST-MORTEM*

A análise estatística revelou diferença na glicemia de jejum em função da dieta perinatal, mas sem efeito em função da restrição temporal alimentar ou em associação com a intervenção dietética perinatal (Tabela 6). Este mesmo efeito foi observado sobre as taxas de triglicérides para os grupos ocidentalizados. Quanto ao colesterol total, creatinina, proteína total e ureia sérica, não houve alteração nem em função da dieta perinatal e nem pela restrição temporal alimentar a posteriori. Quanto às enzimas associadas a danos hepáticos, apenas a ALT, mais específica do tecido hepático, mostrou-se alterada em função da restrição temporal associada à dieta perinatal (Tabela 6).

Tabela 6. Perfil bioquímico do soro de ratos adultos oriundos de mães alimentadas com dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação submetidos ou não a restrição temporal de alimento

	C	Cr	O	Or
Glicemia (mg/dL)	138,7(±20,75)	146,9(±25,88)	183,1(±32,6)*	164,2(±30,03)
Triglicerídeos	27,10(±8,48)	35,66(±12,64)	45,97(±11,73)*	46,8(±14,47)*

(mg/dL)				
Colesterol (mg/dL)	56,93(±9,98)	61,73(±16,73)	62,54(±11,59)	58,31(±11,34)
Creatinina (mg/dL)	0,25(±0,07)	0,29(±0,05)	0,29(±0,07)	0,28(±0,06)
Proteína (g/dL)	6,6(±0,37)	6,8(±0,32)	6,7(±0,32)	6,7(±0,44)
Uréia (mg/dL)	36,41(±4,8)	37,40(±5,7)	38,22(±7,3)	39,53(±6,46)
AST (U/L)	146,2(±32,39)	132,6(±20,08)	151,1(±17,54)	164,1(±41,49)
ALT (U/L)	57,58(±12,81)	44,59(±9,59)	55,9(±14,06)	59,68(±12,13)[#]

Grupos: Grupo Controle (C); Grupo Controle com restrição temporal de alimento (Cr); Grupo Dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação (O); Grupo dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação com restrição temporal do alimento (Or). ANOVA *one-way* seguido do teste de Tukey * vs C [#] vs Cp (p<0,05). Valores expressos em média ± DPM.

Na tabela 7, observa-se que a gordura gonadal, retroperitoneal e abdominal total, mostraram-se maiores no Grupo Ocidentalizado comparado ao controle, e o grupo Or exibe uma maior gordura abdominal total. Contudo, nenhuma diferença foi observada no peso relativo do fígado.

Tabela 7. Peso relativo de órgãos e gordura abdominal de ratos submetidos à restrição temporal de alimento.

Órgãos/gordura (g/100g peso)	C	Cr	O	Or
Fígado	3,22(±0,5)	2,79(±0,1)	2,9(±0,26)	2,8(±0,5)
Gordura abdominal	1,88(±0,82)	2,36(±1,05)	3,56(±1,16)*	3,12(±0,64)*
Gordura gonadal	0,88(±0,36)	1,13(±0,45)	1,64(±0,76)*	1,52(±0,48)
Gordura retroperitoneal	0,99(±0,52)	1,22(±0,73)	1,77(±0,56)*	1,46(±0,14)

Grupos: Grupo Controle (C); Grupo Controle com restrição temporal do alimento (Cr); Grupo Dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação (O); Grupo dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação com restrição temporal do alimento (Or). ANOVA *one-way* seguida do teste de Bonferroni. * vs O (p<0,05). Valores expressos em média e desvio padrão da média.

7 DISCUSSÃO

O presente estudo foi capaz de detectar mudanças no estado nutricional e comportamento alimentar provocados tanto pela dieta materna quanto pela restrição temporal de alimento. Houve mudanças no padrão alimentar em função da privação de alimento, um menor consumo de alimentos em função dessa restrição temporal e modificações no perfil glicídico, lipídico e elevado acúmulo de gordura abdominal.

A dieta materna teve impacto no peso ao nascer das proles, causando um aumento do peso das ninhadas advindas de mães submetidas à dieta ocidentalizada de 11,4% quando comparadas as ninhadas do grupo controle. Esse resultado é apoiado por outros estudos que usaram dieta ocidentalizada na vida perinatal. Ferro-Cavalcante et al (2013) e Pomar et al (2017) também detectaram maior peso corporal ao nascer em prole de ratos alimentados com dieta ocidentalizada na gestação e lactação. No entanto, pequenas alterações na composição da dieta podem levar a resultados distintos. Ferro-Cavalcante et al (2013) encontrou aumento de peso ao nascer, mas não na vida adulta. Pode-se inferir que esse maior peso ao nascer se dê não apenas pelo conteúdo energético ingerido, mas também devido à proporção de nutrientes da dieta, pois independente do conteúdo energético, a qualidade do nutriente é importante. Ou seja, esse ganho de peso é dependente não só da quantidade de energia ingerida, como também do teor lipídico da dieta. Pois durante a gestação e lactação este maior conteúdo lipídico na alimentação materna aumentou o peso da prole (HOWIE et al, 2009; FERRO-CAVALCANTE et al, 2014)

Contudo, este peso corporal não se mostrou maior na idade de 21 e 60 dias. Pomar et al (2017) submetendo as mães a dieta de cafeteria e estudando as repercussões na prole, também não encontrou maior peso do grupo ocidentalizado ao desmame, porém o grupo submetido à dieta de cafeteria apresentou maior percentual de gordura e menor percentual de massa magra nas ninhadas investigadas aos 21 dias de vida.

Porém em nosso estudo, a partir da idade adulta o grupo alimentado com dieta padrão oriundo de mãe alimentada com dieta ocidentalizada (O) mostra aumento na massa corporal até o término do período experimental. Curiosamente, a restrição temporal imposta a partir dos 60 dias de vida em ambos os grupos, não reduziu o peso dos mesmos comparados aos seus pares.

Estudos recentes mostraram que perturbações na homeostase de nutrientes no início da vida podem causar modificações epigenéticas que predis põem o indivíduo a doenças metabólicas em longo prazo (HANLEY et al, 2010). A alteração de peso corporal é um dos sinais mais externos de que pode haver alterações no funcionamento fisiológico e metabólico do indivíduo requerendo maior investigação dos fatores subjacentes.

Quando avaliados ao longo do período experimental, houve uma diferença de peso entre o grupo ocidentalizado e o grupo controle entre a sétima semana experimental e o final do período de avaliação do peso. Também houve diferença de peso entre o grupo ocidentalizado e o grupo ocidentalizado privado na oitava semana experimental, mas que não se perpetuou ao longo do estudo. Apesar disso, não houve diferença de peso entre os grupos privados e seus pares controles ao longo da pesquisa. Assim, é possível inferir que mudanças no metabolismo energético estejam ocorrendo. No estudo de Rocha et al (2017) e Oliveira et al (2017) que realizaram respectivamente inversão da disponibilidade da dieta e privação alimentar, também não observaram mudanças da massa corporal nos grupos manipulados. Assim como Reznick et al (2013) também não observou diferença de peso com animais submetidos à alimentação restrita à fase clara do ciclo de 24 horas. Em conjunto esses dados sugerem que mudanças no paradigma alimentar pode alterar o metabolismo e/ou o gasto energético.

O padrão de ingestão alimentar antes da restrição temporal de ração em ambos os grupos foi semelhante, mostrando um pico de ingestão no início da fase escura do ciclo de 24 horas e outro pico de ingestão no final desta fase. Este padrão de ingestão alimentar já foi demonstrado por estudos de meados do século passado (TER HAAR et al, 1972; STRUBBE et al, 1986) e mais recentes (NASCIMENTO et al, 2013) já demonstram este perfil em animais e em humanos (SCHEER; MORRIS; SHEA, 2013).

Quanto ao padrão de ingestão alimentar observado ao final de oito semanas de restrição temporal da ração, observou-se que os grupos restritos tiveram um menor consumo alimentar em relação aos seus pares não restritos como era esperado, mas não compensaram a falta de alimento na fase clara do ciclo. Isso levou a uma diminuição de 46% na ingestão diária global dos grupos restritos em relação aos grupos controles. Porém, a redução da ingestão não diminuiu a massa corporal total, e ainda elevou os depósitos de gordura abdominal total desses

grupos. Arble et al (2009) mostrou que mudanças apenas no horário da alimentação podem afetar hormônios relacionados com os períodos de saciedade (período entre as refeições, nas quais os indivíduos não sentem fome).

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram encontrados em estudo prévio de nosso grupo de pesquisa. Deixando fêmeas adultas privadas nas primeiras 4h da fase escura do ciclo de 24h, Oliveira et al (2017) constatou que grupos privados tiveram consumo diário total 50% menor do que o grupo *ad libitum*. A literatura aponta que o período do dia no qual a maior quantidade de alimento/energia é ingerida interfere na resposta ao ganho de peso, e que esta ingestão mostra-se diretamente associada ao consumo durante o período claro (SALGADO-DELGADO et al., 2010; OLSEN et al., 2017). Como neste estudo não foi observado aumento da ingestão no período claro, podemos sugerir que este fator parece ser um dos motivos para que não se observasse diferença no ganho de peso neste grupo. No entanto, esta afirmativa não é unânime nos estudos, visto que Costa et al (2017) encontrou menor peso corporal em animais alimentados com dieta comercial/controle e privados de alimento por 8h na fase escura.

Esta diferença pode ser modificada em função da idade de início da restrição temporal e/ou da extensão do tempo de acompanhamento. Considerando que a homeostase energética é fundamental para o desenvolvimento normal e a manutenção de funções corporais, seu controle deve ser assegurado por um mecanismo auto-ajustado e complexo estabelecido entre diversos órgãos corporais sinalizados por variados hormônios e outros componentes.

Neste contexto, analisando o consumo alimentar por fase do ciclo de 24 horas, pôde-se observar que a restrição temporal de ração não levou a uma alteração de consumo alimentar durante a fase clara para os grupos restritos e que tanto o grupo controle restrito quanto o grupo ocidentalizado restrito consumiram respectivamente 29% e 22% a mais do que seus pares controles no final da fase escura do ciclo de 24 horas.

Perturbações metabólicas, como a restrição da ingestão energética a uma fase que se opõe à fase de alimentação tradicional, podem modificar a ação de quase todos os osciladores periféricos, alterando o balanço energético. A ritmicidade circadiana hepática, por exemplo, é altamente responsiva ao consumo energético cíclico. (ECKEL-MAHAN et al, 2012). Análises proteômicas do tecido hepático de ratos sugerem que até 20% das proteínas hepáticas oscilam com o ritmo circadiano

e várias dessas proteínas estão envolvidas em importantes funções metabólicas (REDDY, 2006). Ratos com alterações em osciladores circadianos hepático exibem maior glicose sérica, hipoglicemia de jejum e outras características que sugerem que o relógio circadiano hepático regula a exportação de glicose no sangue (LAMIA, 2008).

À avaliação do metabolismo de glicose através do TOTG aos 60 dias de vida, não houve diferenças na resposta à sobrecarga de glicose imposta aos animais nem na fase clara nem na fase escura do ciclo de 24 horas. Esta regulação do metabolismo de glicose já foi evidenciada em estudos anteriores (BODEN et al, 1996 e LA FLEUR et al 2001). Quando realizado o TOTG após 60 dias de restrição temporal alimentar em ambas as fases do ciclo de 24 horas, o padrão de resposta à sobrecarga de glicose foi mantida em todos os grupos durante a fase escura do ciclo de 24 horas. Porém, quando analisada a fase clara do ciclo, houve diferença na resposta à sobrecarga de glicose tanto na curva glicêmica após a sobrecarga quanto na área sob a curva de glicose, onde o grupo ocidentalizado mostrou não só um retardo para voltar ao estado glicêmico basal, bem como aumento da área sob a curva glicêmica em relação ao grupo controle. Achados semelhantes foram encontrados por Rocha et al (2017).

Resultado prévio do nosso grupo de estudo, observou que o TOTG realizado no mesmo na fase escura do ciclo responde de forma distinta da fase clara. (ROCHA et al, 2017). Esta resposta provavelmente não está associada apenas a ingestão de alimento visto que a glicemia é mantida em níveis de estreitas variações mesmo sem ocorrer ingestão de alimentos. A explicação mais plausível é que osciladores periféricos estejam associados a sua regulação circadiana. Esta regulação já foi demonstrada previamente em humanos (BODEN et al, 1996) e em roedores (LAFLEUR et al, 2001), evidenciando uma sensibilidade cíclica, onde esta é mais elevada na fase mais ativa do indivíduo.

Neste estudo, o efeito da sensibilidade à insulina entre as fases clara e escura pode ser evidenciado entre o grupo O e C. E, quanto à responsividade ao estado de jejum e alimentação, está bem nítido na fase escura dos grupos restritos comparados aos seus pares controles. A responsividade à alimentação pode ser entendida como a regulação exercida pela oferta alimentar interferindo na sincronização de ritmos fisiológicos a partir da expressão de um oscilador arrastado pelo alimento, FEO (DÍAZ-MUÑOZ et al, 2010).

Animais submetidos à restrição temporal alimentar, parecem desenvolver um fator antecipatório ao alimento (FAA), este fator ressincroniza vários mecanismos fisiológicos (STEPHAN, 2002). Um aumento na mobilidade duodenal parece preceder o FAA comportamental de uma para duas horas (COMPERATONE e STEPHAN, 1987), durante a FAA há uma diminuição no glucagon sem modificações na glicose ou insulinemia (DAVIDSON e STEPHAN, 1999) e Díaz-Munoz (2000), reportou diminuição da insulina por volta de uma hora antes do início da refeição e aumento do glucagon no início da refeição.

Alguns estudos cronobiológicos mostram que a variação na secreção de insulina não ocorre apenas por causa da quantidade de comida ingerida (GAGLIARDINO e HERNANDEZ, 1971). Os resultados de La Fleur (1999), também demonstraram uma variação da glicemia de acordo com a fase claro/escuro do ciclo de 24 horas, padrão alimentar invertido, tempo de jejum e dieta com privação ou restrição temporal. Ainda observando este panorama, Chaix et al (2014), após submeter ratos à restrição alimentar teve amplo efeito sobre o metabolismo de glicose em animais submetidos previamente à uma dieta hiperlipídica.

A obtenção da curva glicêmica de 24 horas realizada ao final do período de restrição temporal alimentar permitiu observar que os grupos não diferem entre si durante a fase clara do ciclo. Na fase escura foi visto que a glicemia do grupo controle restrito foi menor que a do seu par controle por todo o período escuro e que o grupo ocidentalizado teve menor glicemia que o grupo controle em Zt16 e ZT20 e o grupo ocidentalizado privado em Zt12 e Zt16. No estudo de Gagliardino e Hernandez et al(1971) foi visto que a variação na secreção de insulina não ocorre apenas pela quantidade de comida ingerida, resultados corroborados por La Fleur (2001), como já citado. Young e Bray et al (2007) relatam que o controle circadiano de glicose pode ser exercido por diversos mecanismos como a expressão de genes circadianos como CLOCK e BMAL1. Uma inativação do gene BMAL1, por exemplo, suprime a variação de glicose no ciclo de 24 horas e pode levar à intolerância a glicose e resistência à insulina, enquanto camundongos mutantes para o gene CLOCK mostram sinais de doenças metabólicas, incluindo hiperglicemia e hipoinsulinemia.

Esses resultados mostram a importância dos genes osciladores circadianos no controle glicêmico. Ademais, os clocks dos tecidos periféricos são arrastados por períodos de jejum e alimentação. Assim, mudanças no período de se alimentar,

quantidade de comida, ou ainda, composição da dieta, podem interferir na função normal dos genes osciladores relacionados à homeostase energética, principalmente ao metabolismo de glicose e lipídios (OLIVEIRA et al, 2017).

À análise do perfil bioquímico do soro dos animais, foi constatado que houve uma maior glicemia do grupo ocidentalizado quando comparado ao grupo controle, porém o grupo ocidentalizado restrito não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. Este dado sugere que a restrição temporal alimentar dirimiu os efeitos metabólicos negativos da dieta materna sobre o metabolismo de glicose. Chaix et al (2014), estudando os efeitos da restrição alimentar sobre o metabolismo, viu que esta restrição teve amplo efeito no metabolismo de glicose em ratos submetidos previamente à dieta hiperlipídica. Nesse contexto, Ferro-Cavalcante et al (2013) achou alterações séricas nos parâmetros metabólicos de ratos adultos submetidos à dieta ocidentalizada na vida perinatal.

Quando estudada a quantidade de gordura abdominal retirada dos animais após a eutanásia, foi observado que os animais de ambos os grupos ocidentalizados apresentaram maior conteúdo adiposo quando comparados aos grupos controles. Este resultado já foi previamente encontrado por Ferro-Cavalcante et al(2013) e Pomar et al (2017). Estudo prévio realizado em ratos submetidos à dieta de cafeteria durante o período perinatal mostra que estes animais apresentam peso normal, porém maior percentual de gordura corporal e menor percentual de massa magra, mostrando um fenótipo corporal de peso normal com elevada adiposidade corporal (POMAR et al, 2017).

Para avaliar o comportamento alimentar, utilizou-se o método de Sequência Comportamental da Saciedade (SCS). Dentre os trabalhos realizados utilizando o mesmo desenho experimental ao utilizado neste estudo, Costa et al (2017), investigou o impacto da privação alimentar sobre a sequência comportamental da saciedade. Os resultados do trabalho mostram que a privação antecipou o disparo da saciedade em dieta com adequada proporção de macronutrientes, resultados semelhantes foram encontrados nesse estudo, onde o grupo Cr teve sua saciedade adiantada quando comparada ao grupo C. O controle alimentar é um mecanismo complexo que envolve apetite, motivação e demandas energéticas do organismo. Estes aspectos podem ser modificados por diferentes fatores como a privação de alimento e o estresse (ELY et al, 1997).

Estudos precedentes a este já mostram um efeito de programação na SCS. Orozco-Solis e colaboradores (2009) mostraram que uma prole de machos cujas mães foram alimentadas com dieta hipoproteica durante a gestação e lactação, tiveram um maior tamanho em suas refeições em relação aos seus pares controles quando submetidos à SCS tanto aos 35 dias de vida como aos 180 dias de vida. A dieta materna leva a modificações epigenéticas e programação metabólica que reverberam na vida adulta (HANLEY et al, 2010).

Simple modificação do horário da alimentação pode afetar hormônios relacionados com a saciedade (ARBLE et al, 2009). Os resultados parecem ser positivos, pois houve uma aceleração da saciedade quando a restrição esteve associada a uma dieta adequada em proporção de macronutrientes durante o período perinatal. A SCS mostrou que os animais que foram submetidos à dieta ocidentalizada na vida perinatal tiveram um adiantamento da saciedade em relação aos seus pares controles. Quando analisados os dados da microestrutura da refeição, observou-se que mesmo atingindo o ponto de saciedade mais rápido, os grupos ocidentalizados, consumiram maior quantidade de ração em curto período de tempo quando comparados aos animais dos grupos controle.

Wright et al (2011), avaliou a SCS e monoaminas hipotalâmicas de ratos adultos submetidos à dieta de cafeteria apenas durante a lactação. Esta manipulação levou os animais a consumirem uma maior quantidade de alimento no início da SCS, resultado este que se assemelha ao encontrado no presente estudo. Wright demonstrou que a dieta de cafeteria levou à redução hipotalâmica do metabolismo do 5HT, precursor da serotonina. Além disso, houve também o aumento das concentrações de dopamina dos animais submetidos à dieta de cafeteria no período lactacional. Estes achados mostram que a manipulação dietética na lactação produz efeito duradouro no comportamento alimentar e nos neurotransmissores monoamina do hipotálamo na vida adulta, possivelmente programando efeitos nos mecanismos de saciedade.

Este adiantamento do ponto de saciedade mostrado pelos animais submetidos à dieta ocidentalizada na vida perinatal somado ao fato desses animais terem consumido quantidade maior de alimento em um curto período de tempo (taxa de alimentação de animais controles = $\pm 0,29$ g/min contra taxa de alimentação dos animais ocidentalizados = $\pm 0,81$ g/min) após o início da SCS caracterizaria uma compulsão alimentar. Compulsão alimentar ou “binge eating” é a ingestão de um

volume de alimentos anormalmente grande em um período de tempo curto. A compulsão alimentar pode ocorrer na ausência de fome e pode seguir uma refeição de tamanho normal. Nos seres humanos, a compulsão alimentar é fundamental para os efeitos destrutivos de muitos distúrbios alimentares (BOGGIANO, 2006). Um modelo de ratos de compulsão alimentar permite a identificação de desencadeantes ambientais críticos e mudanças fisiológicas que precipitam e mantêm o comportamento (BOGGIANO, 2006).

A evidência de modelos animais apoia os estudos epidemiológicos e demonstra que a obesidade materna induzida por dieta de cafeteria (ocidentalizada) impacta a programação comportamental da prole, resultando em deficiências no comportamento social, aumento da ansiedade e comportamentos depressivos, redução desenvolvimento cognitivo e hiperatividade. O consumo alimentar de dieta ocidentalizada durante a gestação está associado à disfunção placentária e à exposição dos fetos ao aumento os níveis circulantes de leptina, insulina, glicose, triglicerídeos e citocinas inflamatórias (SULLIVAN, 2015). Compulsão alimentar é comumente associada à depressão e ansiedade em humanos e em animais. (NOVICK et al., 2005; KLOIBER et al., 2007; SINGH et al., 2007, 2009; AKUBUIRO et al., 2013; PATTERSON e ABZAID, 2013; SHARMA E FULTON, 2013).

Com base nesses resultados, podemos concluir que privação do horário da alimentação e/ou composição dietética durante a vida perinatal, ou seja, um maior consumo alimentar ao final fase escura do ciclo (momento em que, fisiologicamente o organismo do rato está se preparando para o descanso) associada ou não a um desequilíbrio em macronutrientes na dieta materna no período crítico de desenvolvimento, causam alterações metabólicas e no comportamento alimentar. E, apesar do estudo não mensurar a atividade locomotora, os genes envolvidos no controle do “relógio biológico” ou os neuropeptídios e hormônios responsáveis pelo comportamento alimentar, podem promover alterações metabólicas que podem contribuir para instalação de obesidade e morbidades correlatas e ser característica de uma alteração na fisiologia circadiana. Em adição, essas manipulações dietéticas na vida perinatal podem gerar uma desorganização na secreção hormonal e expressão de neuropeptídios envolvidos no controle do comportamento alimentar exacerbando algumas desordens metabólicas.

8 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que restrição temporal da alimentação e/ou composição dietética da dieta na vida perinatal, ou seja, restrição seguida de um maior consumo alimentar ao final fase ativa, (período em que, fisiologicamente, o organismo está se preparando para descansar) provoca alterações no metabolismo e no comportamento alimentar, gerando um adiantamento ou um atraso na saciedade com prováveis repercussões na saúde do organismo.

Como limitações do estudo, não foi realizada nenhuma investigação no aspecto molecular como a expressão de genes osciladores em tecidos periféricos relacionados ao metabolismo energético e nem dosagens hormonais ou de neuropeptídeos envolvidos no controle do comportamento alimentar.

Contudo, este é o primeiro estudo a explorar a influência no comportamento alimentar ocasionado pela restrição temporal da alimentação associada às repercussões da composição dietética da dieta materna no período crítico de desenvolvimento e a relação da alimentação com os ritmos biológicos e distúrbios metabólicos dentro dessa perspectiva. Por isso, estudos adicionais serão necessários para melhor explicar os mecanismos subjacentes aos resultados encontrados no trabalho.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, E. et al. Nutrição em obstetrícia e pediatria. Rio de Janeiro: **Cultura Médica**; 540p. 2002
- ADAMS, A. C. et al. Feeding Behaviour in Galanin Knockout Mice Supports a Role of Galanin in Fat Intake and Preference. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, p. 199–206, 2008
- AKUBUIRO, A; ZIMMERMAN, M.; BOLES-PONTO, L.L.; WALSH, S.A.; SUNDERLAND, J.; MCCORMICK, L.; SINGH, M. Hyperactive hypothalamus, motivated and non-distractible chronic overeating in ADAR2 transgenic mice. **Genes Brain Behav** 12(3):311-22, 2013
- ALBUQUERQUE, KT. et al. Intake of trans fatty acids-rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**. 22:820-9, 2006
- ALFARADHI, MZ. et al. Maternal Obesity in Pregnancy Developmentally Programs Adipose Tissue Inflammation in Young, Lean Male Mice Offspring. **Endocrinol**, 157(11): 4246–4256, 2016
- ANDRIKOPOULOS, S. et al. Evaluating the glucose tolerance test in mice. **American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism**, v. 295, p. 1323-1332, 2008
- ARBLE, D. M. et al. Circadian timing of food intake contributes to weight gain. **Obesity**, v.17, p. 2100-2102, 2009.
- ASHINO, NG. et al. Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver. **J Nutritional Biochemistry**. 23:341-48, 2012
- AZEVEDO, D. V.; SAMPAIO, H.A.C. Consumo alimentar de gestantes adolescentes atendidas em serviço de assistência pré-natal. **Ver. Nutr. (online)**, 2003.
- BAKER, D.E.J. Reproduction and Breeding. In: BAKER, H.J.; LINDSEY, J.R. The laboratory rat: biology and disease. London: **Academic Press**. v.1. Cap. 8, p.169-192, 1979.
- BARBOUR, L. A., et al. Human placental growth hormone increases expression of the p85 regulatory unit of phosphatidylinositol 3-kinase and triggers severe insulin resistance in skeletal muscle. **Endocrinology**, 145(3):1144-50, 2004.
- BARCLAY, J. L. et al. Circadian desynchrony promotes metabolic disruption in a mouse model of shiftwork. **PLoS ONE**, v.7, p. 1-11, 2012.

BARREIROS, R.C. BOSSOLAN, G. TRINDADE, C.E.P. Fructose in humans: metabolic effects, clinical utilization, and associated inherent errors. **Rev. Nutr.** 18(3):377-389, 2005

BARROS, D. C. et al. O consumo alimentar de gestantes adolescentes no Município do Rio de Janeiro. **Cad Saúde Pública** 2004.

BAYOL, S. A., SIMBI, B. H., FOWKES, R. C., STICKLAND, N. C. A Maternal "Junk Food" Diet in Pregnancy and Lactation Promotes Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rat Offspring. **Endocrinology**.151:1451-146, 2010.

BELISIO, A. S. et al. Métodos cronobiológicos aplicados à neurociência clínica e experimental. In: LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; FUKUSIMA, S. S. **Métodos em neurociência**. São Paulo: Manole, 2012. p. 114-127.

BERNARDIS, L. L.; BELLINGER, L. L. The lateral hypothalamic area revised: ingestive behavior. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 20, n. 2, p. 189-287, 1996.

BILBO, S.D.; TSANG, V.; Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. **The FASEB Journal**, 2010.

BLUNDELL, J. E.; GOODSON, S.; HALFORD, J. C. G. Regulation of appetite: role of leptin in signalling systems for drive and satiety. **International Journal of Obesity**, v. 25, Suppl 1, S29–S34, 2001.

BODEN, G.; CHEN, X.; MOZZOLI, M.; RYAN, I. Effects of fasting on serum leptin in normal human subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 1996.

bodyweight in rats with inverted feeding pattern. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, 2017.

BOGGIANO, M.M.; CLANDLER, P.C. Binge Eating in Rats Combining Dieting with Stress. **Current Protocols in Neuroscience**, 9.23A.1-9.23A.8. 2006

BOULOS, Z. et al. Photic entrainment in hamsters: effects of simulated twilights and nest box availability. **Journal of Biological Rhythms**, v. 11, n. 3, p. 216-233, 1996

BOULOS, Z.; TERMAN, M. Food availability and daily biological rhythms. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 4, p. 119-131, 1980

BROBERGER, C.; JOHANSEN, J.; JOHANSSON, C.; SCHALLING, M.; HÖKFELT, T. The neuropeptide Y/agouti gene-related protein (AGRP) brain circuitry in normal, anorectic, and monosodium glutamate-treated mice. **PNAS**. 95 (25) 15043-15048, 1998.

BUETTNER, R. et al. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. **Journal of Molecular Endocrinology**, v.36, p. 485–501, 2006.

BURTON-FREEMAN, B.; GIETZEN, D. W., SCHNEEMAN, B. O. Meal pattern analysis to investigate the satiating potential of fat, carbohydrate, and protein in rats. **American Journal of Physiology**, v. 273, n. 6 pt2, p. R1916-1922, 1997.

CAMBRAIA, R. P. B. Psychobiological aspects of feeding behaviour. **Ver. Nutri. [online]**. 2004, vol.17, n.2, pp.217-225. ISSN 1415-5273

Cannon W, B. Organization for physiological homeostasis. **Physiol Rev** 9: 399–431, 1929.

CARNEIRO, B. T. S.; ARAUJO, J. F. Food entrainment: major and recent findings. **Frontiers in BEHAVIORAL NEUROSCIENCE**, v. 6, n. 83, p. 1-6, 2012.

CATALANO, PM. et al. Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero. **Diabetes Care**. 32:1076–80, 2009

CATANIA, A. C. Aprendizagem: comportamento, linguagem e cognição. **Artmed**, Porto Alegre, 1999.

CAVALCANTE, J. C. Com gosto de FEO: a procura pelo oscilador circadiano sincronizado pelo alimento. **Neurociências**, v. 4, n. 2, 2008.

CAVALCANTE, T. C. F. et al. Effects of a Westernized Diet on the Reflexes and Physical Maturation of Male Rat Offspring During the Perinatal Period. **Lipids**, v. 48, n. 11, p. 1157-1168, nov. 2013.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JUNIOR, O. Modelos Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições Aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, 2006.

CHAIX, A. et al. Time-Restricted Feeding Is a Preventative and Therapeutic Intervention against Diverse Nutritional Challenges. **Cell Metabolism**, v. 20, p. 991–1005, dez. 2014.

CHOU, T. C. et al. Critical role of dorsomedial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. **THE JOURNAL OF NEUROSCIENCE**, v. 23, p.10691-10702, 2003.

CIOFFI, F.; SENESE, R.; LASALA, P.; ZIELLO, A.; MAZZOLI, A.; CRESCENZO, R. et al. Fructose-Rich Diet Affects Mitochondrial DNA Damage and Repair in Rats. **Nutrients**, 2017, 9, 323

CLAYCOMBE, KJ; BRISSETTE, CA.; GHRIBI, O. Epigenetics of Inflammation, Maternal Infection, and Nutrition. *J Nutr.* 1109-1115, 2015

COMPERATONE, C.A.; STEPHAN, F.K. Entrainment of duodenal activity to periodic feeding. **J Biol Rhythms** 2:227-242, 1987

CONE, R.D.; COWLEY, M.A.; BUTLER, A.A.; FAN, W.; MARKS, D.DL; LOW, M.J. The arcuate nucleus as a conduit for diverse signals relevant to energy homeostasis. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.** 25(Suppl. 5):S63–S67, 2001.

COSTA, A.C.O.; ARAÚJO, N.C.M.; ARAÚJO, A.P.J.M.Q; SOUZA, S.L.; NASCIMENTO, E. Food privation followed by standard chow or western diet alters feeding behavior and abdominal fat in male Wistar rats. **No prelo**

CUNNINGHAM, F.G. et al. Williams obstetrics. 21st ed. Chicago: McGraw-Hill; 2001.

DÂMASO, A.R., OLLER DO NASCIMENTO, C. M., Efeitos do exercício realizado durante o ciclo reprodutivo sobre o metabolismo lipídico: análise de estudos utilizando animais experimentais. *Rev. paul. Educ. Fís., São Paulo*, 12(1): 54-70, jan./jun, 1998.

DÂMASO, A.R., OLLER DO NASCIMENTO, C. M., Efeitos do exercício realizado durante o ciclo reprodutivo sobre o metabolismo lipídico: análise de estudos utilizando animais experimentais. **Rev. paul. Educ. Fís., São Paulo**, 12(1): 54-70, jan./jun, 1998.

DAVIDSON, A.J.; STEPHAN, F.K. Plasma glucagon, glucose, insulin and motilin in rats anticipating daily meals. **Physiol Behav** 66:309-315, 1999b

DÍAZ-MUÑOZ, M. et al. Daytime food restriction alters liver glycogen, triacylglycerols, and cell size. A histochemical, morphometric, and ultrastructural study. **Comparative hepatology**, v. 9, n. 1, p. 5, jan. 2010.

DIAZ-MUNOZ, M.; VAZQUEZ-MARTINEZ, O; AGUILAR-ROBLERO, R; ESCOBAR, C. Anticipatory changes in liver metabolism and entrainment of insulin, glucagon, and corticosterone in food-restricted rats. **Am J Physiol** 279:R2048-R2056, 2000

ECKEL-MAHAN, K. L. et al. Reprogramming of the Circadian Clock by Nutritional Challenge. **Cell**, v. 155, p. 1464–1478, dez. 2013.

EDMONDS, S.C. Food and light as entrainers of circadian running activity in the rat. **Physiology & Behavior**, v. 18, p. 915-919, 1977.

EGECIOGLU, E. et al. Hedonic and incentive signals for body weight control. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v.12, n. 3, p.141–151, 2011.

ELAHI, M. M., CAGAMPANG, F. R., MUKHTAR, D., ANTHONY, F. W., OHRI, S. K., HANSON, M. A. 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*. 102:514-519, 2009.

ELIAS, C. F. et al. Chemically defined projections linking the mediobasal hypothalamus and the lateral hypothalamic area. **Journal Complementation Neurology**, [S.I.]: v. 402, p. 442-459, 1998.

ELLIOTT, S.S. et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **Am J Clin Nutr**. 76(5):911–22, 2002

ELY, D. R. et al. Effect of restraint stress and feeding behavior of rats. **Physiology & Behavior**, v. 61, p. 395-398, 1997

FEILLET, C. A.; ALBRECHT, U.; CHALLET, E. Lack of food anticipation in Per2 mutant mice. **Current biology**, v. 16, n. 20, p. 2016–22, out. 2006.

GAGLIARDINO, J.J.; HERNANDEZ, R.E. Circadian variation of the serum glucose and immunoreactive insulin levels. **Endocrinology**, 88(6):1529-31, 1971

GLUCKMAN, P.D.; HANSON, M.A.; Living with the Past: Evolution, Development, and Patterns of Disease. **Science**, 2004.

GUILLEMOT-LEGRIS, O. High fat diet feeding differentially affects the development of inflammation in the central nervous system. **J Neuroinflammation**; 13:206, 2016

GUTHRIE, H.A.; PICCIANO, M.F. Human nutrition. **Saint Louis : MOSBY**, 1995. 654p.

HALFORD, J.C.; WANNINAYAKE, S.C.; BLUNDELL, J.E. Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 61, n. 2, p.159-168, out. 1998.

HANLEY, B.; DIJANE, J.; FEWTRELL, M.; GRYNBERG, A.; HUMMEL, S.; JUNIEN, C.; KOLETZKO, B.; LEWIS, S.; RENZ, H.; SYMONDS, M.; et al. Metabolic imprinting, programming and epigenetics - a review of present priorities and future opportunities. **Br J Nutr** 104 Suppl. 2010; 1:S1–25.

HERMINGHUYSEN, D.; PLAISANCE, K.; PACE, R.; PRASAD, C. Prolonged stimulation of corticosterone secretion by corticotropin-releasing hormone in rats exhibiting high preference for dietary fat. **Nutritional Neuroscience**, v. 1, n. 3, p. 251-254, 1998.

HOLDER, M. D. Role of prefeedings, plasma amino acid ratios and brain serotonin levels in carbohydrate and protein selection. **Physiology & Behavior**, v. 47, n. 1, p. 113-119, 1990.

HOWIE, G.J.; SLOBODA, D.M.; KAMAL, T.; VICKERS, M.H. Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. **Journal of Physiology**, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (**IBGE**). Pesquisa de orçamentos familiares, 2002-2003. Aquisição alimentar domiciliar per capita, Brasil e grandes regiões. Rio de Janeiro; 2004.

ISHII, Y. et al. Effects of systematic variation in presatiation and fasting on the behavioural satiety sequence in male rats. **Physiology & Behavior**, v. 79, p. 227–238, 2003.

JIMENEZ, D.M., POCIVI, M., RAMON-CAJAL, J., ROMERO, M.A., MARTINEZ, H., GRANDE, F. Longitudinal study of plasma lipids and lipoprotein cholesterol in normal pregnancy and puerperium. **GynecolObstet Invest** 25(3):158-64, 1988.

JIMENEZ, D.M., POCIVI, M., RAMON-CAJAL, J., ROMERO, M.A., MARTINEZ, H., GRANDE, F. Longitudinal study of plasma lipids and lipoprotein cholesterol in normal pregnancy and puerperium. **GynecolObstet Invest** 25(3):158-64, 1988.

KALRA, S.P.; DUBE, M.G.; PU, S.; XU, B.; HORVATH, T.L. & KALRA, P.S.- Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. **Endocrine Reviews**, 20(1): 68-100, 1999.

KENNY, P.J. Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. **Neuron**. 2011 Feb 24;69(4):664-79.

KING, J.C., WEININGER, J. Embarazo y lactancia. **Organización Panamericana de la Salud**, 1991. p.362-368.

KIRWAN, J.P., et al. TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. **Diabetes**, 51(7):2207-13, 2002.

KLOIBER, S.; ISING, M.; PEPPERMUND, S.; HORSTMANN, S.; DOSE, T.; MAJER, M.; ZIHL, J.; PFISTER, H.; UNSCHULD, P.G.; HOLSBOER, F.; LUCAE, S. Overweight and obesity affect treatment response in major depression. **Biol Psychiatry** 62(4):321-6, 2007.

KNOPP, R.M.; MAGEE, M.S.; WALDEN, C.E.; BONET, B.; BENEDETTI, T.J. Prediction of Infant Birth Weight by GDM Screening Tests: Importance of plasma triglyceride. **Diabetes Care**. 1992 Nov;15(11):1605-13.

KOHSAKA, A. et al. High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. **Cell Metabolism**, v. 6, n. 5, p. 414-421, nov. 2007.

KRIEGER, D. T.; HAUSER, H.; KREY, L.C. Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. **Science**, v. 197, p. 398-399, 1977.

KRISTENSEN, P.; JUDGE, M.E.; THIM, L.; RIBEL, U.; CHRISTJANSEN, K.N.; WULFF, B.S.; CLAUSEN, J.T.; JENSEN, P.B.; MADSEN, O.D.; VRANG, N.; LARSEN, P.J.; HASTRUP, S. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. **Nature** 7;393(6680):72-6, 1998.

KUMMEROW, FA. et al. Trans fatty acids in hydrogenated fat inhibited the synthesis of the polyunsaturated fatty acids in the phospholipid of arterial cells. **Life Sci**.74:2707-23, 2004

KUROSE, Y.; TERASHIMA, Y. Histamine regulates food intake through modulating noradrenaline release in the para-ventricular nucleus. **Brain Research**, v. 828, p. 115-118, 1999.

LA FLEUR, S. E. et al. A daily rhythm in glucose tolerance. **Diabetes**, v. 50, p. 1237-1243, 2001.

LAMIA, K.A.; STORCH, K.F.; WEITZ, C.J. Physiological significance of a peripheral tissue circadian clock. **Proc Natl Acad Sci** 15172–15177, 2008

LARQUÉ, E.; ZAMORA, S.; GIL, A. Dietary trans fatty acids in early life: a review. **Early Hum Dev**. 65:31-41, 2001

LE FLOCH, J. P.; ESCUYER, P.; BAUDIN, E.; BAUDON, D.; PERLEMUTER, L. Blood glucose area under the curve: Methodological aspects. **Diabetes Care**, v.13, n. 2, p. 172-175, 1990.

LEIBOWITZ, KL. et al. Maternal obesity associated with inflammation in their children. **World J Pediatr**.8:76–9, 2012

LEIBOWITZ, S. F. Neurochemical-neuroendocrine systems in the brain controlling macronutrient intake and metabolism. **Trends in Neurosciences**, v. 15, n. 12, p. 491-497, 1992.

LOPASCHUK, GD.; USSHER, JR.; FOLMES, CD.; JASWAL, JS.; Stanley, WC. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. **Physiol Rev**, 90: 207–258, 2010

LU, J. et al. Contrasting effects of ibotenate lesions of the paraventricular nucleus and subparaventricular zone on sleep-wake cycle and temperature regulation. **THE JOURNAL OF NEUROSCIENCE**, v. 21, p. 4864-4874, 2001.

LUSTIG, R.H. Fructose: it's "alcohol without the buzz". **Adv Nutr** 4, 226–235, 2013.

LUTTER, M.; NESTLER, E.J. Homeostatic and hedonic signals interact in the regulation of food intake. **Journal of Nutrition**, v. 139, n. 3, p. 629–632, 2009.

MAHANTA, LB. et al. On the Study of Pre-Pregnancy Body Mass Index (BMI) and Weight Gain as Indicators of Nutritional Status of Pregnant Women Belonging to Low Socio-Economic Category: A Study from Assam. **Indian J Community Med.** 40(3):198–202, 2015

MANEESAI, P. et al. Asiatic acid attenuates renin-angiotensin system activation and improves vascular function in high-carbohydrate, high-fat diet fed rats. **BMC Complement Altern Med.** 16:123, 2016

MASEK, J.; FABRY, P. High-fat diet and the development of obesity in albino rats. **Experientia**, v. 15, p. 444-445, nov. 1959.

MASTORAKOS, G., ILIAS I. Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum. **Ann N Y Acad Sci**, 997:136-49, 2003.

MATTSON, M.P.; ALLISON, D.B.; FONTANA, L.; HARVIE, M.; LONGO, V.D.; MALAISSE, W.J.; MOSLEY, M.; NOTTERPEK, L.; RAVUSSIN, F.A.J.L.; SEYFRIED, T.N.; VARADY, K.A.; PANDA, S. Meal frequency and timing in health and disease. **PNAS**, 2014.

MCCURDY, CE. et al. Maternal high fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. **J Clin Invest.** 119:323-35, 2009

MCCURDY, CE.; SHENCK, S.; HETRICK, B.; HOUCK, J.; DREW, BG.; KAYE, S.; et al. Maternal obesity reduces oxidative capacity in fetal skeletal muscle of Japanese macaques. **JCI Insight**. 1(16), 2016

MELHORN, S. J. et al. Acute exposure to a high-fat diet alters meal patterns and body composition. **Physiology & Behavior**, v. 99, n. 1, p. 33–39, jan, 2010.

MELO, P.R. et al. A fase fértil da fêmea sincroniza o peril diário da marcação de cheiro em saguis (*Callithrix jacchus*) machos? **Publica**, p. 86-97, 2006.

MENDONÇA, C.P.; ANJOS, L.A. Aspectos das práticas alimentares e da atividade física como determinantes do crescimento do sobrepeso/obesidade no Brasil. **Caderno de Saúde Pública** [online], v.20, n. 3, p. 698-709, 2004.

MIELKE, J.G. et al. Longitudinal study of the effects of a high-fat diet on glucose regulation, hippocampal function, and cerebral insulin sensitivity in C57BL/6 mice. **Behav Brain Res**. 175(2):374–382, 2006

MIÑANA-SOLIS, M. C. et al.. Differential Effects of a restricted Feeding Schedule on Clock- Gene Expression in the Hypothalamus of the Rat. **Journal Chronobiology International**, v. 6, p. 808-820, 2010.

MORGANE, PJ. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosc Biobehav Reviews**.17:91-128, 1993

MORIMOTO, T.; YAMAMOTO, Y.; YAMATODANI, A. Brain histamine and feeding behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 124, p. 145-150, 2001.

MORLEY, J. E. Neuropeptide regulation of appetite and weight. **Endocrine Reviews**, v. 8, n. 3, p. 256-287, 1987.

MROSOVSKY, N. Locomotor activity and non-photic influences on circadian clocks. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 71, p. 343-372, 1996.

NADERALI, E. K. et al. Diet-induced endothelial dysfunction in the rat is independent of the degree of increase in total body weight. **Clin Sci (London)**. 100:635-41. 2001.

NAEF, L.; SRIVASTAVA, L.; GRATTON, A.; HENDRICKSON, H.; OWENS, S.M.; WALKER, C.D. Maternal high fat diet during the perinatal period alters mesocorticolimbic dopamine in the adult rat offspring: reduction in the behavioral responses to repeated amphetamine administration. **Psychopharmacology**, 2008.

NAISMITH, D. J.; MORGAN B. L. G. The biphasic nature of protein metabolism in pregnancy in the rat. **Br. J. Nutr.**, v. 36, p. 533-536, 1976.

NASCIMENTO, E.O. et al. "Long-lasting effect of perinatal exposure to L-tryptophan on circadian clock of primary cell lines established from male offspring born from mothers fed on dietary protein restriction." **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. 1-14, 2013.

NOVICK, J.S.; STEWART, J.W.; WISNIEWSKI, S.R.; COOK, I.A.; MANEY, R.; NIERENBERG, A.A.; ROSENBAUM, J.F.; SHORES-WILSON, K.; BALASUBRAMANI, G.K.; BIGGS, M.M.; ZISOOK, S.; RUSH, A.J. Medical comorbidity and validity of DSM-IV depression criteria. **Psychol Med** 36(1):27-36, 2006.

OISHI, K.; ITOH, N. Disrupted daily light-dark cycle induces the expression of hepatic gluconeogenic regulatory genes and hyperglycemia with glucose intolerance in mice. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 432, p. 111-115, 2013.

OLIVEIRA, D.A.; NASCIMENTO, E. Privação de alimento durante as primeiras 4 horas da fase escura de ratas adolescentes: consequências sobre o peso, gordura visceral e metabolismo. **No prelo**

OLIVEIRA, L. S.; SOUZA, S. L.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Behavioral satiety sequence: an experimental model for studying feeding behavior. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 4, p. 619-628, jul./ago. 2011.

OOSTERMAN, J. E. et al. Impact of nutrients on circadian rhythmicity. **American journal of physiology - Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 308, p. R337–R350, 2015.

OROZCO-SÓLIS, R. et al. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. **Physiology & Behavior**, v. 96, p. 481–492, 2009.

PADILHA, PC. et al. Pre-gestational anthropometric nutritional status and obstetrics outcomes. **Rev Assoc Bras Nutr.** 2(1), 2009

PANCHAL, SK. et al. Rutin attenuates metabolic changes, nonalcoholic steatohepatitis, and cardiovascular remodeling in high-carbohydrate, high-fat diet-fed rats. **J Nutr.** 141(6):1062–9, 2011

PATTERSON, Z.R.; ABIZAID, A. Stress induced obesity: lessons from rodent models of stress. **Front Neurosci** 7:130, 2013

PENFOLD, NC.; OZANNE, SE. Developmental programming by maternal obesity in 2015: Outcomes, mechanisms, and potential interventions. **Horm Behav.** 76:143–152, 2015

PICCIANO, M. F. Embarazo y lactancia. **Conocimientos actuales sobre nutrición.** 7th ed. Washington: OMS, 1997.

PINE, A. P. et al. Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. **Brit. J Nutr.** 71: 13-27. 1993

POMAR, C.A.; VAN NES, R.; SÁNCHEZ, J.; PICÓ, C.; KEIJER, J. PALOU, A. Maternal consumption of a cafeteria diet during lactation in rats leads the offspring to a thin-outside-fat-inside phenotype. **International Journal of Obesity.** volume41, pages1279–1287 (2017).

PURCELL, RH. et al. Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition and pup ingestive behavior. **Physiol Behav,** 104:474-479, 2011

RAMONIENÉ, G.; MALECKIENÉ, L.; NADIŠAUSKIENĖ, RJ.; BARTUSEVIČIENĖ, E.; RAILAITĖ, DR.; MAČIULEVIČIENĖ, R et al. Maternal obesity and obstetric outcomes in a tertiary referral center. **Medicine.** 173, 2017

REDDY, A.B.; KARP, N.A.; MAYWOOD, E.S. Circadian orchestration of the hepatic proteome. **Curr Biol** 16, 1107–1115, 2006

Refinetti R. Variability of diurnality in laboratory rodents. **J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol.** 192:701-14, 2006

REGNAULT, T.R.H.; GENTILI S.; SAAR, O.; TOOP, C.R.; SLOBODA, D.M. Fructose, pregnancy and later life impacts. **Clin Exp Pharmacol Physiol** 40, 824–837, 2013

REZNICK, J.; PRESTON, E.; WILKS, D.L.; BEALE, M.; TURNER, G.; COONEY, J. Altered feeding differentially regulates circadian rhythms and energy metabolism in liver and muscle of rats. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Bases of disease,** 2013.

ROCHA, L.S.; MATOS, R.J.B.; SOUZA, J.A.; COSTA, A.C.O.; SOUZA, S.L.; MUNIZ, G.S.; NASCIMENTO, E. Daytime increase in caloric intake without change in total 24 hr caloric intake can increase adiposity but not total

RODGERS, R.J.; ISHII, Y.; HALFORD, J.C.; BLUNDELL, J.E. Orexins and appetite regulation. **Neuropeptides,** 2002.

RODGERS, R.J.; ISHII, Y.; HALFORD, J.C.G.; BLUNDELL, J.E. Orexins and appetite regulation. **Neuropeptides** (2002) 36 (5), 303–325

RUSAK, B.; GROOS, G. Suprachiasmatic stimulation phase shifts rodent circadian rhythms. **Science**. 215(4538):1407-9, 1982.

RYAN, E.A., ENNS, L. Role of gestational hormones in the induction of insulinresistance. **J ClinEndocrinolMetab**, 67(2):341-7, 1988.

SAHAR, S.; SASSONE-CORSI, P. Regulation of Metabolism: The Circadian Clock dictates the Time. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 23, n. 1, p. 1–8, jan. 2012.

SAKAMOTO, K.; NAGASE.; FUKUI, H.; HORIKAWA, K.; OKADA, T.; TANAKA, H.; SATO, K.; MIYAKE, Y.; OHARA, O.; KAKO, K.; ISHIDA, N. Multitissue Circadian Expression of Rat *period* Homolog (*rPer2*) mRNA Is Governed by the Mammalian Circadian Clock, the Suprachiasmatic Nucleus in the Brain. **J. of biol. Chem**, 1998.

SANTOS, A. C. A. et al. ESTUDO BIOMÉTRICO DE RATOS ALIMENTADOS COM DOIS TIPOS DE DIETA. **Colloquium Vitae**, v. 2, n. 2, p. 01-05, jul/dez. 2010.

SANTOS, K.C.R.; MURARU, L.O.; WITKOWSKI, M.C.; BREIGERON, M.K. Ganho de peso gestacional e estado nutricional do neonato: um estudo descritivo. **Rev. Gau. Enfermagem**, 2014.

SASAKI A. et al. Maternal high-fat diet alters anxiety behavior and glucocorticoid signaling in adolescent offspring. **Neurosci**. 272:92–101, 2014

SCHEER, F. A. J. L; MORRIS, C. J.; SHEA. S. A. The Internal Circadian Clock Increases Hunger and Appetite in the Evening Independent of Food Intake and Other Behaviors. **Obesity**, v. 21, p. 421-423, 2013

SHARMA, S; FULTON, S. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. **Int J Obes** 37(3):382-9, 2013

SINGH, M.; KESTERSON, R.A.; JACOBS, M.M.; JOERS, J.M.; GORE, J.C.; EMESON, R.B. Hyperphagia-mediated obesity in transgenic mice misexpressing the RNA-editing enzyme ADAR2. **J Biol Chem** 282(31):22448-59, 2007

SOHLSTROM, A. et al. Body composition and fat distribution during the first 2 weeks of gestation in ad lib._ fed and energy - restricted rats. **Brit J Nutr**. 71: 317 - 33. 1994.

Stanhope K. L., Havel P. J. Endocrine and metabolic effects of consuming beverages sweetened with fructose, glucose, sucrose, or high-fructose corn syrup. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 2008;88(6):1733S–1737S. doi: 10.3945/ajcn.2008.25825d

STEPHAN, F. K.; SWANN, J. M.; SISK, C.L. Entrainment of circadian rhythms by feeding schedules in rats with suprachiasmatic lesions. **Behavioral and Neural Biology**, v. 25, p. 545-554, 1979.

STEPHAN, F.K. Calories affect zeitgeber properties of the feeding entrained circadian oscillator. **Physiology & Behavior**, v. 62, p. 995-1002,1997.

STEPHAN, F.K. Phase shifts of circadian rhythms in activity entrained to food access. **Physiology & Behavior**, v. 32, p. 663-671, 1984.

STEPHAN, F.K. The “other” circadian system: food as a Zeitgeber. **Journal of Biological Rhythms**, v. 17, p. 284-292, 2002.

STEPHAN, F.K.; DAVIDSON, A. J. Glucose, but not fat, phase shifts the feeding-entrained circadian clock. **Physiology & Behavior**, v. 65, p. 277-288, 1998.

STORLIEN L. H. et al. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats: relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipids. **Diabetes**, v. 40, p. 280– 289, 1991.

STORLIEN, L. H. et al. Dietary fats and insulin action. **Diabetologia**, v. 39, n. 6, p. 621-631, jun. 1996.

STRUBBLE, J.H.; KEYSER, J.; TJALLINGDJKSTRA, A.B.; ALINGHPRINS, J. Interaction between circadian and caloric control of feeding behavior in the rat. **Physiology & Behavior**, 1986.

SULLIVAN, E.L.; RIPERA, K.M.; LOCKARDA, R.; VALLEAUB, J.C. Maternal High-Fat Diet Programming of the Neuroendocrine System and Behavior. **Horm Behav.** 76: 153–161, 2015

SUN, B. et al. Maternal High-Fat Diet During Gestation or Suckling Differentially Affects Offspring Leptin Sensitivity and Obesity. *Diabetes*; 61, 2012

SUTER, M.; BOCOCK, P.; SHOWALTER, L.; HU, M.; SHOPE, C.; McKNIGHT, R. et al. Epigenomics: maternal high-fat diet exposure *in utero* disrupts peripheral circadian gene expression in nonhuman primates. **FASEB J.** 25(2): 714–726, 2011

TALLET, A.J.; BLUNDELL, J.E.; RODGERS, R.J. Night and day: Diurnal differences in the behavioural satiety sequence in male rats. **Physiology & Behavior**, v. 97, p. 125–130, 2009.

TER HAAR, M.B. Circadian and estrual rhythms in food intake in the rat. **Hormones and Behavior**, 1972.

TINOCO, SMB. et al. The importance of essential fatty acids and the effect of trans fatty acids in human milk on fetal and neonatal development. **Cad Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 23(3):525-534, 2007

TOOP, C.R.; GENTILI, S. Fructose beverage consumption induces a metabolic syndrome phenotype in the rat: a systematic review and meta-analysis. **Nutrients** 8, 577, 2016.

TZIOMALOS, K. et al. Endothelial dysfunction in metabolic syndrome: prevalence, pathogenesis and management. **Nutr Metab Cardiovasc Dis.** 20(2):140–6, 2010

UPADHYAYA, B.; LARSEN, T.; BARWARI, S.; LOUWAGIE, EJ.; BAACK, ML.; DEY, M. Prenatal Exposure to a Maternal High-Fat Diet Affects Histone Modification of Cardiometabolic Genes in Newborn Rats. **Nutrients**, 9(4): 407, 2017

VAN ESSEVELDT, K. E.; LEHMAN, M. N.; BOER, G. J. The suprachiasmatic nucleus and the circadian time-keeping system revisited. **Brain Research**, v. 33, n. 1, p. 34-77, ago. 2000.

VIEIRA, E. et al. The Clock Gene Rev-erb_β Regulates Pancreatic β -Cell Function: Modulation by Leptin and High-Fat Diet. **Endocrinology**, v. 153, p. 592–601, 2012.

WHITE, B. D.; DEAN, R. G.; MARTIN, R. J. Association between low levels of dietary protein, elevated NPY gene expression in the basomedial hypothalamus and increased food intake. **Nutritional Neuroscience**, v. 1, n. 3, p. 173-182, 1998

WRIGHT, T.M.; FONE, K.F.C.; LANGLEY-EVANS, S.C.; VOIGT, J.P.W. Exposure to maternal consumption of cafeteria diet during lactation period programmes feeding behavior in the rat. **Int. J. devl. Neuroscience**, 2011

YAZLLE, M.E.H.D. Nutrição na gestação e lactação. São Paulo :Sarvier, 1998

YOUNG, M. E.; BRAY, M. S. Potential role of peripheral circadian clock dysynchrony in the pathogenesis of cardiovascular dysfunction. **Sleep Medicine**, v.8, p. 656-667, 2007.

YOUNG, S. N. Behavioral effects of dietary neurotransmitter precursors: basic and clinical aspects. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 20, n. 2, p. 313-323, 1996.

ZUBIRÍA, M.G.; ALZAMENDI, A.; MORENO, G.; REY, M.A.; SPINEDI, E.; GIOVAMBATTISTA, A. Long-Term Fructose Intake Increases Adipogenic Potential: Evidence of Direct Effects of Fructose on Adipocyte Precursor Cells. **Nutrients**. 8:198, 2016.

APÊNDICE A – SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DA SACIEDADE

SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DE SACIEDADE

ANIMAL/GRUPO: PESO RAÇÃO INÍCIO: DATA EXPERIMENTO:

TRATAMENTO: PESO RAÇÃO FINAL: PESO ANIMAL:

ALIMENTAÇÃO	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	
1=	2=	3=	4=	5=	6=	7=	8=	9=	10=	11=	12=

LIMPEZA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	
1=	2=	3=	4=	5=	6=	7=	8=	9=	10=	11=	12=

DESCANSO	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	
1=	2=	3=	4=	5=	6=	7=	8=	9=	10=	11=	12=

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biodiversidade

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8860 / 2126 9351
fax: (55 81) 2126 8250
www.cdb.ufpe.br

Recife, 07 de dezembro de 2016.

Ofício nº 118/16

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

Para: **Prof.ª Elizabeth do Nascimento**

Departamento de Nutrição

Centro de Ciências da Saúde

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 0036/2016

Certificamos que a proposta intitulada “Dieta ocidentalizada na vida perinatal: estudo de comportamento alimentar e ritmo alimentar circadiano em função dos horários de disponibilidade de ração”, registrada com o nº 0036/2016, sob a responsabilidade de Prof.ª Dr.ª Elizabeth do Nascimento - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 07/12/2016.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Até 02/2018
Espécie/linhagem/raça	Ratos Wistar
Nº de animais	40
Peso/idade	350g/8 semanas
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Biotério do Depto de Nutrição da UFPE

Atenciosamente,

Prof. Dr. Pedro V. Canelli
Presidente do CEA (CEA-UFPE)
CPF: 2581586