



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA CLÍNICA E**  
**EXPERIMENTAL**

**Recuperação nutricional pós-desmame, com rações hiperlipídicas, de  
ratos cujas mães foram desnutridas na lactação: avaliação da  
adiposidade e do perfil lipídico.**

**Carlos Alberto Soares da Costa**

**RIO DE JANEIRO**  
**2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA CLÍNICA E**  
**EXPERIMENTAL**

**Recuperação nutricional pós-desmame, com rações hiperlipídicas, de ratos cujas mães foram desnutridas na lactação: avaliação da adiposidade e do perfil lipídico.**

**Carlos Alberto Soares da Costa**

**Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro para obtenção do grau de mestre em Fisiopatologia.**

**RIO DE JANEIRO**

**2007**

**FICHA CATALOGRÁFICA**

Costa, Carlos Alberto Soares da

Recuperação nutricional pós-desmame, com rações hiperlipídicas, de ratos cujas mães foram desnutridas na lactação: avaliação da adiposidade e do perfil lipídico./ Carlos Alberto Soares da Costa – 2007.

xx, 83.p

Orientador: Celly Cristina Alves Nascimento-Saba

Co-orientador: Egberto Gaspar de Moura

Tese (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Centro Biomédico, Faculdade de Ciências Médicas, Curso de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Desnutrição 2. Recuperação nutricional 3. Óleo de Soja 4. Óleo de Canola 5. Leptina I. Celly Cristina Alves Nascimento-Saba II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro – Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental III. Título.

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA CLÍNICA E**  
**EXPERIMENTAL**

**Recuperação nutricional pós-desmame, com rações hiperlipídicas, de ratos cujas mães foram desnutridas na lactação: avaliação da adiposidade e do perfil lipídico.**

**Carlos Alberto Soares da Costa**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Celly Cristina Alves Nascimento-Saba**  
**(Orientadora)**

**Prof. Dr. Egberto Gaspar de Moura**  
**(Co-orientador)**

**Avaliado em 19 de Abril de 2007 pela banca examinadora:**

**Prof. Dra. Josely Correa Koury.**  
**Prof. Dr. Gilson Teles Boaventura.**  
**Prof. Dra. Rachel Moreira Morais dos Santos.**

**RIO DE JANEIRO**  
**2007**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Endócrina do Instituto de Biologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Celly Cristina Alves Nascimento-Saba e co-orientação do Prof. Dr. Egberto Gaspar de Moura com apoio financeiro concedido pelo CNPq, FAPERJ e CAPES. O autor foi bolsista da CAPES.

**Se eu vi mais longe, foi por estar de pé sobre ombros de gigantes.  
(Isaac Newton, 1642-1727)**

**A todos os pacientes da AACD (Associação de Assistência a Criança Deficiente), que serviram de inspiração e motivação para a o desenvolvimento deste projeto científico.**

## AGRADECIMENTOS

A Professora Doutora Celly Cristina Alves do Nascimento-Saba por me conduzir no caminho da contextualização e da crítica científica, além da orientação e paciência, desde a Iniciação Científica.

Ao Professor Doutor Egberto Gaspar Moura pela co-orientação deste trabalho e coordenação do Laboratório de Fisiologia Endócrina e do programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da UERJ.

A toda equipe do Laboratório de Fisiologia Endócrina da UERJ e do Laboratório de Nutrição Experimental da UFF pela paciência e colaboração para a realização deste trabalho.

A equipe do Centro Universitário de Controle do Câncer (CUCC), Hospital Universitário Pedro Ernesto/ UERJ e em especial a professora Alexandra Monteiro, pela sua contribuição magnífica para o estudo radiológico desenvolvido neste trabalho.

Ao Professor Doutor Carlos Magno, nutricionista que me indicou o melhor caminho na área de nutrição experimental. A sua contribuição foi fundamental.

A Professora Dra Eliete Bouskela por ter disponibilizado ingredientes necessários para manufatura das rações utilizadas neste trabalho.

A minha família. As pessoas certas, que sempre deram a força necessária para carregar a cruz que eu escolhi.

A todos aqueles que de uma maneira ou de outra, estiveram ao meu lado, inspirando-me as idéias. Com as quais, servi de instrumento para a concretização deste trabalho.

**LISTA DE QUADROS**

	Página
Quadro 1 Desequilíbrio hormonal, desordens metabólicas e doenças em animais e homens adultos que sofreram retardo do desenvolvimento intra-uterino.....	7

**LISTA DE TABELAS**

	Página
Tabela 1	Prevalência de déficits de peso-para-idade nas crianças menores de dez anos de idade, por grupos de idade, segundo classes de rendimento monetário mensal familiar per capita – Brasil – período 2002-2003.....
	3
Tabela 2	Composição da formula F-100 recomendada, pela FAO/OMS, durante a recuperação nutricional de crianças.....
	10
Tabela 3	Efeitos dos ácidos graxos poliinsaturados (C18: 2n-6 e C18: 3n-3) sobre os níveis sanguíneos de lipoproteínas.....
	17
Tabela 4	Composição básica da ração comercial para ratos Agrocere <sup>®</sup> utilizada durante a gestação e lactação.....
	21
Tabela 5	Composição nutricional das rações purificadas, segundo o AIN-93G.....
	23
Tabela 6	Massa absoluta dos órgãos aos 60 dias .....
	36
Tabela 7	Massa relativa dos órgãos aos 60 dias .....
	37
Tabela 8	Avaliações bioquímicas aos 60 dias.....
	42
Tabela 9	Avaliação hormonais (leptina, T <sub>4</sub> e T <sub>3</sub> ) aos 60 dias.....
	43

**LISTA DE FIGURAS**

	Página
Figura 1 Desenvolvimento da programação da obesidade nos adultos.....	9
Figura 2 Esquema do protocolo experimental.....	22

**LISTA DE GRÁFICOS**

	Página
Gráfico 1	Massa corporal e comprimento corporal (B) dos filhotes ao final de 21 dias de lactação ..... 30
Gráfico 2	Consumo alimentar da prole ..... 31
Gráfico 3	Evolução da massa corporal da prole ..... 32
Gráfico 4	Evolução de comprimento corporal da prole..... 33
Gráfico 5	Razão massa e comprimento corporal da prole ..... 34
Gráfico 6	Índice de massa corporal da prole ..... 35
Gráfico 7	Massa relativa de gordura visceral aos 60 dias. .... 38
Gráfico 8	Percentual de gordura corporal aos 60 dias..... 39
Gráfico 9	Área de gordura visceral aos 60 dias ..... 40
Gráfico 10	Área de gordura total aos 60 dias..... 41

**LISTA DE ABREVIATURAS**

IBGE	-	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
AIN-93G	-	<i>American Institute of Nutrition</i> . Ração desenvolvida para roedores, desenvolvida no ano de 1993, para a fase de crescimento ( <i>Growth phase</i> )
ANOVA	-	Análise de variância
ATP	-	Adenosina trifosfato
°C	-	Graus Celsius
C7%	-	Ratos do grupo controle alimentados com ração contendo 7ml de óleo de soja /100g, após desmame.
cm	-	Centímetro
dL	-	Decilitro
EDTA	-	Ácido etilenodiaminotetraacético
EPM	-	Erro padrão da média
F-100	-	Fórmula com 100 Kcal/ 100 ml
g	-	Gramas
GPDH	-	Glycerol-3-phosphate-dehydrogenase
HDL	-	Lipoproteínas de alta densidade
IGF	-	Fator de crescimento <i>Insulin-like</i>
Kcal	-	Quilocalorias
Kg	-	Quilograma
KOH	-	Hidróxido de Potássio
LDL	-	Lipoproteína de baixa densidade
M	-	Molar
mg	-	Miligrama
MGV	-	Massa de gordura visceral
ml	-	Mililitro
mm	-	Milímetro
ng	-	nanograma
OB-R	-	Receptor de leptina

OB-Ra	- Subtipo de receptor de leptina
OB-Rb	- Subtipo de receptor de leptina
POF	- Pesquisa de Orçamentos Familiares
RA	- Restrição Alimentar
RA 19%	- Ratos dos grupos RA alimentados com rações contendo 19ml de óleo vegetal/ 100g, após desmame.
RA7%	- Ratos do grupo RA alimentados com ração contendo 7ml de óleo de soja /100g, após desmame.
RAc19%	- Ratos do grupo RA com ração contendo 7ml de óleo de canola / 100g, após desmame.
RA <sub>s</sub> 19%	- Ratos do grupo RA alimentados com ração contendo 19ml de óleo de soja / 100g, após desmame.
RIA	- Radioimunoensaio
rpm	- Rotações por minuto
T <sub>3</sub>	- Triiodotironina
T <sub>4</sub>	- Tiroxina
TC	- Tomografia Computadorizada
VLDL	- Lipoproteínas de muito baixa densidade
µg	- Micrograma

**ÍNDICE**

	Página
Lista e quadros.....	ix
Lista de tabelas.....	x
Lista de figuras.....	xi
Lista de gráficos.....	xii
Lista de abreviaturas.....	xiii
Índice.....	xv
Resumo.....	xvi
Abstract.....	xvii
Introdução.....	1
Materiais e métodos.....	20
Resultados.....	29
Discussão.....	44
Conclusão.....	55
Referências Bibliográficas.....	57
Anexos.....	75

**RESUMO**

**INTRODUÇÃO:** A desnutrição continua a ser o maior problema de saúde pública em todos os países em desenvolvimento. No tratamento, a disponibilidade de uma dieta com densidade elevada é alcançada com o aumento do conteúdo lipídico, especialmente, na forma de óleos vegetais. No entanto, são poucos os relatos acerca da recuperação nutricional após a desnutrição em períodos críticos do desenvolvimento. O objetivo deste estudo é descrever as repercussões do uso de ração suplementada com óleo de soja ou de canola na ingestão alimentar, adiposidade corporal e perfil lipídico, após desmame de ratos desnutridos durante a lactação. **MATERIAL E MÉTODOS:** Ratas lactantes foram submetidas à restrição alimentar (RA) em 50%, em relação ao consumo das lactantes controles (C). Seus filhotes, após desmame, foram alimentados com ração contendo 7% de óleo de soja (C7% e RA7%), ou com ração suplementada com 19% de óleo de soja (RAs19%) ou de óleo de canola (RAc19%). Foram avaliados a ingestão alimentar, massa e comprimento corporal. No final do período experimental, foi avaliada a área de tecido adiposo abdominal, por Tomografia Computadorizada (TC). Após sacrifício, aos 60 dias de idade, massa absoluta e relativa de órgãos vitais, parâmetros bioquímicos, hormonais, percentual de gordura corporal e intra-abdominal foram avaliados. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média, considerando  $p < 0,05$ . **RESULTADOS:** Durante o período de nutrição experimental, os grupos RA 19% apresentaram menor consumo alimentar e desenvolvimento físico, comparados ao grupo RA7%, e este, em relação ao grupo C7%. Os parâmetros bioquímicos, leptina e  $T_3$ , não apresentaram alterações significativas, em relação ao grupo C7%. Mas, houve uma redução de  $T_4$  nos ratos RAs19%, em relação ao grupo RA7%. O tecido adiposo visceral nos grupos RA 19% apresentaram massa menor que o RA7% e o C7%. Na TC, o RAc19% apresentou a menor área de tecido adiposo. A massa relativa dos órgãos vitais foi igual ou maior nos grupos RA em relação ao C7%. **DISCUSSÃO e CONCLUSÃO:** O tecido adiposo total e visceral avaliado por TC diferiu com o óleo vegetal utilizado. O *brain sparing* é maior no grupo RAc19%. A oferta de rações suplementadas com óleo de soja ou de canola, agravou o menor ganho de adiposidade, massa e comprimento corporal observado em animais que foram desnutridos na lactação.

**ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Malnutrition continues to be a major public health problem around the developing world. In the treatment, the readiness of a diet with high density is reached with the increase of the lipid content, especially in the form of vegetable oils. However, there are few reports focusing the recovery from malnutrition after critical periods of the development. The objective of this study to describe the food intake, fat-body composition and lipid profile, in undernourished rats during lactation, post-weaning fed soy or canola oil supplemented ration. **MATERIAL and METHODS:** Dams were 50% food restricted (FR) and comp

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. Desnutrição e fome, um panorama mundial:**

A desnutrição é mais corretamente designada como “deficiências nutricionais”, já que são várias as modalidades de doenças que decorrem do aporte alimentar insuficiente em energia e nutrientes ou, ainda, com alguma frequência, do inadequado aproveitamento biológico dos alimentos ingeridos. A fome crônica, ocorre quando a alimentação diária, habitual, não propicia ao indivíduo energia suficiente para a manutenção do seu organismo e para o desempenho de suas atividades cotidianas. Nesse sentido, a fome crônica resulta em uma das modalidades de desnutrição: a deficiência energética crônica (Monteiro, 2003).

Apesar do direito inalienável de todo ser humano de não padecer de fome e desnutrição ter sido reafirmado sucessivamente em conferências dos países membros das Nações Unidas (Monte, 2000), a desnutrição continua a ser o maior problema de saúde pública em todos os países em desenvolvimento (Müller & Krawinkel, 2005).

A carência protéico-energética é sem dúvida a forma mais letal de desnutrição, sendo responsável em pelo menos metade das 10,4 milhões de mortes de crianças a cada ano (WHO, 2000). Geograficamente, mais de 70% das crianças com desnutrição protéico-energética vivem na Ásia, 26% na África e 4% na América Latina e no Caribe (WHO, 2000).

No Brasil, os dados antropométricos relativos ao estado nutricional de crianças até 10 anos, coletados durante a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF/ IBGE, 2004), revelou uma prevalência de déficit de peso-para-idade de 5,8% para o conjunto de crianças. Quando analisado a prevalência da desnutrição nas grandes regiões do país, verifica-se que a região Norte e Nordeste do País são aquelas mais afetadas pela desnutrição infantil. Quando relacionada com a renda familiar, ocorre um aumento da prevalência, que

ultrapassa o limiar de 10%, característica de frequência moderada de desnutrição nos primeiros estratos de renda familiar (renda de até 0,5 salários mínimos *per capita*) da população de menores de 5 anos (POF/ IBGE, 2004), como ilustrado na tabela 1.

**Tabela 1:** Prevalência de déficits de peso-para-idade nas crianças menores de dez anos de idade, por grupos de idade, segundo classes de rendimento monetário mensal familiar per capita – Brasil – período 2002-2003.

Classes de rendimento monetário mensal familiar <i>per capita</i> (salários mínimos)	Prevalência de déficit de peso-para-idade nas crianças menores de 10 anos de idade (%)	
	0 a 4 anos	5 a 9 anos
Até ¼	11,9	9,2
Mais de ¼ a ½	10,7	7,3
Mais de ½ a 1	6,9	4,3
Mais de 1 a 2	5,0	2,9
Mais de 2 a 5	2,5	1,4
Mais de 6	2,3	2,1

Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Pesquisa de Orçamentos Familiares.

(*Extraído de POF/IBGE, 2004*)

A pobreza é a causa básica da desnutrição e de seus determinantes, sendo o grau e distribuição desta, em uma dada população, dependente de fatores políticos, econômicos e sociais (Müller & Krawinkel, 2005). A desnutrição infantil também está associada à falta de atendimento das exigências nutricionais nesta faixa etária. Visto que pode ser encontrada em domicílios que não carecem de alimento (Ghosh & Shah, 2004).

## **1.2 Fisiopatologia da desnutrição:**

A desnutrição afeta todos os sistemas e órgãos de crianças desnutridas, reduzindo o funcionamento normal e tornando-o adaptativo, para conservar energia (Monte, 2000). Isto abrange uma redução na capacidade funcional do coração e rins (Ashworth, 2001), redução no peso corporal, depressão na imunocompetência, alteração funcional do sistema digestivo, particularmente, do fígado e intestino delgado (Boza e cols, 1999), retardo no desenvolvimento neuropsicomotor e na maturação sexual (Idohou-Dossou e cols, 2003) como estratégia para garantir a sobrevivência (Monte, 2000). Além disso, as crianças desnutridas podem consumir menor quantidade de alimentos, devido à anorexia (Bhandari e cols, 2001). As alterações anatômicas na deficiência protéico-energética podem ser generalizadas, como a hipoplasia e a atrofia dos tecidos, levando à diminuição do tamanho corporal e dos órgãos (Guzmán-Silva e cols, 2004). Através de investigação laboratorial, a desnutrição pode estar associada a uma hipoglicemia. A mesma pode estar relacionada a uma hipoalbuminemia, e conseqüentemente edema depressível, devido à carência na ingestão de proteínas (Müller & Krawinkel, 2005; Idohou-Dossou e cols, 2003).

Entre os sintomas da desnutrição grave, a diarréia e as infecções pulmonares representam as mais importantes causas do agravamento e da mortalidade em crianças (Gopalan, 2000).

### 1.3 Desnutrição em períodos críticos do desenvolvimento infantil

Os efeitos da deficiência nutricional na infância podem ser imediatos, como um aumento da incidência e severidade de doenças agudas, como diarreia e doenças respiratórias (Caballero, 2002).

Estudos epidemiológicos têm implicado a deficiência protéico-calórica materna como sendo um importante problema de saúde pública em países subdesenvolvidos, incluindo o Brasil. Estudos experimentais têm mostrado que a manipulação nutricional pré ou pós-natal pode programar o metabolismo lipídico, a pressão sanguínea, o diabetes mellitus, a obesidade, a hipertrofia glomerular, a arteriosclerose, o comportamento e a aprendizagem (Langley-Evans e cols, 2005; Moura e cols, 2002; Ramos e cols, 2000; Tonkiss e cols, 1998; Holemans e cols, 1996; Woodall e cols, 1996).

Na tentativa de fornecer um mecanismo conceitual para começar a explicar estas observações, a hipótese do fenótipo econômico (“*The thrifty phenotype hypothesis*”) foi proposta por Hales & Barker (1992). O termo “econômico” foi derivado de uma hipótese anterior, a do genótipo econômico (“*The thrifty genotype hypothesis*”) de Nell (1962), no qual, este propôs que a seleção natural, agindo durante milhares de anos de nutrição intermitentemente pobre, tinha selecionado genes que conferiam um estado metabólico econômico que ajudaria na sobrevivência.

Em contraste, a hipótese de fenótipo econômico propõe que o desenvolvimento fetal é sensível ao ambiente nutricional. Quando este é deficiente, uma resposta adaptável é desencadeada para permitir o crescimento de certos órgãos, como o cérebro. Estas adaptações servem para melhorar as chances de sobrevivência fetal, conduzindo também a um metabolismo pós-natal alterado, que visa aumentar a sobrevivência sob condições de

nutrição, intermitentemente, deficiente. Assim sendo, foi proposto, que somente seriam prejudiciais quando o ambiente nutricional fosse excessivo, resultando em obesidade (Ozanne e cols, 2004; Hales & Ozanne, 2003; Hales & Barker, 1992).

Widdowson & McCance (1963), após estudos experimentais com ratos, verificaram que a desnutrição intra-uterina pode não ter o mesmo efeito, em longo prazo, que a desnutrição depois do nascimento, principalmente, quando ocorre durante o período de lactação. Baseados nesses estudos, Waterland & Garza (1999), utilizaram o termo “*metabolic imprinting*” para descrever o fenômeno biológico relacionando a experiência nutricional em períodos críticos da vida e distúrbios funcionais posteriores.

#### **1.4 Desnutrição intra-uterina:**

Durante a última década, estudos epidemiológicos têm relacionado o retardo do desenvolvimento intra-uterino (*Intrauterine growth retardation* – IUGR) com a etiologia de várias doenças crônicas em humanos e animais na idade adulta (Desai e cols, 2005a; Wu e cols, 2004; Ozanne e cols, 2004; Bellinger e cols, 2004). A tabela 2 resume as repercussões do IUGR na idade adulta.

**Quadro 1:** Desequilíbrio hormonal, desordens metabólicas e doenças em animais e indivíduos adultos que sofreram retardo do desenvolvimento intra-uterino.

**Alterações hormonais:**

Aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticóides e renina; redução dos níveis plasmáticos de insulina, hormônio do crescimento, IGF-1 e hormônios tireoidianos.

**Desordens metabólicas:**

Resistência insulínica, disfunção das células  $\beta$ , dislipidemia, intolerância a glicose, homeostase energética prejudicada, obesidade, diabetes mellitus tipo 2, disfunção mitocondrial e envelhecimento.

**Disfunção em órgãos e desenvolvimento anormal:**

Testículos, ovários, cérebro, coração, músculo esquelético, fígado, timo, intestino delgado, folículos pilosos e glândulas mamárias.

**Desordens cardiovasculares:**

Doenças cardíacas, hipertensão, derrame e arteriosclerose.

*(Adaptado de Wu e cols, 2004).*

Entre os fatores ambientais, a nutrição tem uma importante influência no IUGR (Wu e cols, 2004). Muitos estudos de coorte retrospectivos e experimentais indicam que a desnutrição materna durante a gestação (Bellinger e cols, 2004) e o baixo peso ao nascimento (Ghosh & Shah, 2004) estão associados à hiperfagia, com o aumento do risco de síndrome metabólica e ao desenvolvimento de obesidade (Eriksson e cols, 2003).

## **1.5 Desnutrição durante a lactação**

O aleitamento materno representa a experiência nutricional mais precoce do recém-nascido. Dá continuidade à nutrição iniciada na vida intra-uterina (Balaban & Silva, 2004), confere proteção contra a desnutrição e outras doenças, reduzindo assim a mortalidade infantil (Venâncio & Monteiro, 1998). Há uma grande quantidade de dados sobre a relação

dos efeitos da desnutrição no início da vida pós-natal e as doenças crônicas (Langley-Evans e cols, 2005; Desai e cols, 2005b; Vicente e cols, 2004; Teixeira e cols, 2002; Moura e cols, 2002; Passos e cols, 2001a; Passos e cols, 2001b; Ramos e cols, 2000; Ramos e cols, 1997).

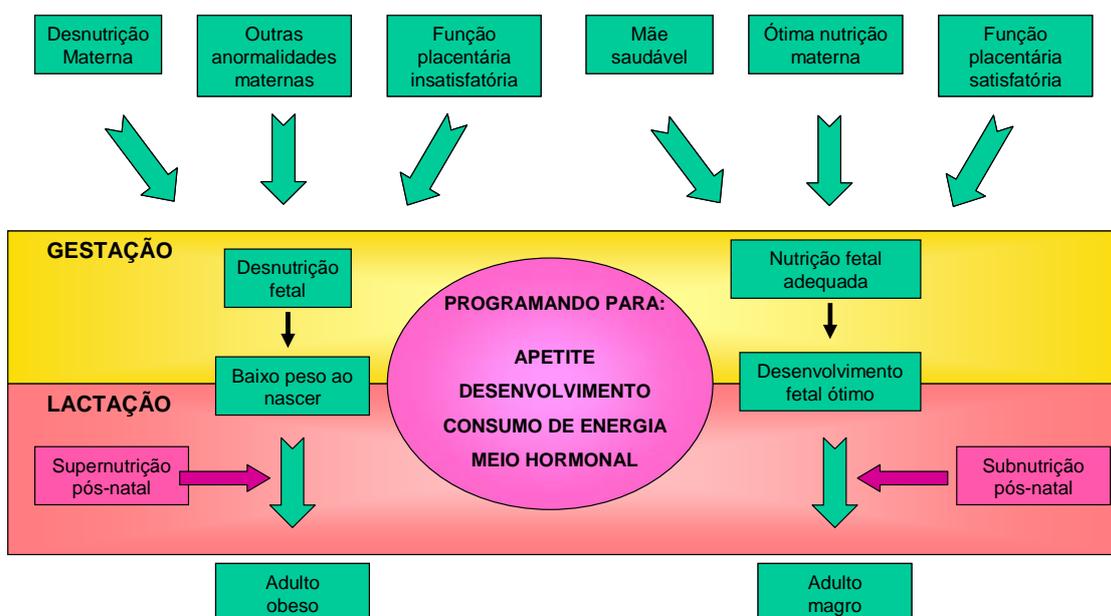
A desnutrição materna no período de lactação participa do processo de *imprinting* metabólico, alterando, por exemplo, o número e/ou tamanho dos adipócitos e na diferenciação metabólica (alterações na expressão de determinados genes, acarretando variações na produção de enzimas, hormônios, receptores hormonais, transportadores transmembrana, etc). A complexidade da rede neuroendócrina que regula o balanço energético, com seus múltiplos integrantes e o grande número de fatores bioativos presentes no leite, sugerem vários mecanismos de atuação do leite materno nesse processo (Passos e cols, 2001b; Balaban & Silva, 2004).

Estudos experimentais relatam que, quando ocorre restrição energética durante a lactação, essa prole apresenta recuperação ponderal aos 55 dias de vida. De forma contrária, quando ocorre restrição protéica a 8%, a prole apresenta menor massa ponderal quando comparado ao grupo controle (Ozanne e cols, 2004; Passos e cols, 2001a; Passos e cols, 2001b). Quando durante a lactação, a rata lactante foi submetida a uma ração multideficiente (preparada de acordo com o consumo alimentar de uma comunidade carente da região litorânea de Pernambuco, Brasil), a prole apresentou baixo ganho ponderal, em relação ao grupo controle, desde o desmame até 84<sup>o</sup> dia de vida (Monteiro e cols, 2001), tal como nos modelos de restrição protéica.

Os resultados do estudo sobre a fome no inverno holandês entre 1944 e 1945 (“*The Dutch Hunger Winter Study*”) relatados por Ravelli e cols, em 1976, sugerem que os indivíduos expostos a uma restrição nutricional durante a gestação apresentam um aumento da taxa de obesidade aos 19 anos de vida. No entanto, aqueles que sofreram a mesma

exposição durante os primeiros meses de vida pós-natal, apresentaram uma relativa resistência à obesidade (Ravelli e cols, 1976). Este estudo sugere que tanto a taxa de desenvolvimento no período intra-uterino quanto nos primeiros meses de vida pós-natal são importantes para a programação da obesidade nos adultos. Esses resultados são consistentes com a hipótese do fenótipo econômico (*“The thrifty phenotype hypothesis”*) (Cripps cols, 2005), como mostrado na Figura 1.

**Figura 1:** Desenvolvimento da programação da obesidade nos adultos



(Adaptado de Cripps e cols, 2005).



A OMS recomenda que esta fórmula fortificada seja oferecida para a criança 2-3 vezes por dia (Colecraft e cols, 2003). As demais refeições diárias, não lácteas, devem ter, também, um conteúdo protéico e lipídico similar ao recomendado na F-100 (Bhan e cols, 2003).

### **1.7 Efeito “Catch-up” durante a recuperação nutricional**

O objetivo principal durante a recuperação nutricional é promover a homeorhesis (“catch-up”), que é considerado uma adaptação fisiológica que permite, a humanos e animais, após o período de desnutrição, um retorno ao desenvolvimento físico programado geneticamente (Crescenzo e cols, 2003). O “catch-up” é potencialmente dependente da quantidade de alimentos, da hiperfagia inicial, do aumento transitório na eficiência de utilização da energia, da redistribuição do tecido adiposo corporal de acordo com o estado nutricional e do tipo de lipídio dietético utilizado (Soriguer e cols, 2003b).

No entanto, o efeito *catch-up* apresenta algumas repercussões fisiológicas negativas. Muitos dos estudos de recuperação nutricional conduzidos em países subdesenvolvidos resultaram em ganho de peso significativo. No entanto, verificou-se pequeno ou nenhum efeito no comprimento corporal, com risco para o desenvolvimento de obesidade (Idohou-Dossou e cols, 2003; Uauy & Kain, 2002). Crescenzo e cols (2003), também relatam que o efeito “catch-up” apresenta elevada susceptibilidade para a obesidade central, intolerância à glicose, diabetes e doenças cardiovasculares na vida adulta. Porém, em estudos com animais alimentados com ração hiperlipídica, a eficiência na acumulação de tecido adiposo se mostrou afetada pela composição de ácidos graxos na ração, evidenciando que a

composição lipídica da dieta pode modular a utilização da energia e afetar a composição corporal (Yamasaki e cols, 2003; Bolte e cols, 2002; Hill e cols, 1993).

### **1.8 Influência do tipo de lipídio dietético sobre a composição corporal:**

Existe um interesse considerável no papel da fonte lipídica dietética para o desenvolvimento da adiposidade. No entanto, os mecanismos pelos quais os lipídios dietéticos modulam a adiposidade corporal ainda não são conclusivos (Jang e cols, 2003).

Estudos experimentais em uma variedade de espécies animais têm mostrado que as dietas hiperlipídicas promovem ganho de massa corporal elevada (Estadella e cols, 2004) com ou sem hiperfagia (Lindqvist e cols, 2005; Cettour-Rose e cols, 2005; Boozer e cols, 1995), inclusive com menor massa de gordura visceral.

Shillaber & Lau (1994), verificaram em ratos, que a dieta rica em ácidos graxos saturados foi mais eficiente do que a dieta rica em ácidos graxos poliinsaturados em promover o desenvolvimento do tecido adiposo da região retroperitoneal, em relação à região epididimal e inguinal, quando a ingestão calórica foi semelhante entre os grupos. Isto demonstra que o desenvolvimento do tecido adiposo é região-dependente, de acordo com a fonte lipídica utilizada na dieta.

Soriguer e cols (2003b) submetem ratos à desnutrição protéico-calórica após o desmame, e em seguida os realimentaram com rações contendo, que continham 8ml de diferentes óleos vegetais, a cada 100g de ração. Verificaram que os animais desnutridos realimentados com ração rica em óleo de oliva ou óleo de peixe apresentaram maior percentual de ganho de massa corporal, quando comparados aos desnutridos alimentados com uma mistura de óleo de soja + ácido palmítico e aos seus respectivos controles. Por

outro lado, apresentaram menor massa absoluta de tecido adiposo intra-abdominal que seus controles. Sugerindo que o conteúdo de lipídios no tecido adiposo e muscular, tal como na região intra-abdominal, podem ser modulados pela fonte lipídica presente na dieta. Em outro estudo, Soriguer e cols (2003a) verificaram que *in vitro*, a prévia alimentação com óleo de oliva (rico em ácidos graxos monoinsaturados) fez com que as células de tecido adiposo respondessem mais à atividade lipolítica da adrenalina e menos à atividade anti-lipolítica da insulina, quando comparado à resposta de células dos animais alimentados com ração contendo mistura de óleo de soja + ácido palmítico.

## **1.9. A recuperação nutricional e o metabolismo energético:**

### **1.9.a. A relação com leptina:**

A dieta hiperlipídica é extremamente palatável e causa menor saciedade do que dietas ricas em carboidratos e proteínas (Axen e cols, 2003), estando associada a mudanças endócrinas e metabólicas como a elevação da concentração plasmática da leptina (Ghibaudi e cols, 2002).

A leptina é um hormônio protéico secretado, predominantemente, pelo tecido adiposo (Bowles & Kopelman, 2001). No núcleo arqueado, atua reduzindo a ingestão alimentar e aumentando o gasto energético (Niswender e cols, 2004). Exerce efeitos na regulação da reprodução sexual, da função imune, na hematopoiese, angiogênese, no controle da pressão sanguínea e no desenvolvimento ósseo (Fruhbeck, 2001; Ahima & Flier, 2000; Ducky e cols, 2000).

Na obesidade humana, no entanto, quando há aumento da concentração plasmática de leptina, verifica-se uma resistência à ação desta, que pode ser causada por redução na sensibilidade do receptor ou alterações pós-receptor no hipotálamo e/ou por redução do transporte através da barreira hemato-encefálica (Tulipano e cols, 2004; Adam & Mercer, 2004). Na desnutrição protéico-calórica, ao contrário da obesidade, ocorre redução na concentração plasmática de leptina, que após recuperação nutricional é normalizada (Büyükgebiz e cols, 2004). Logo, tanto na desnutrição como na obesidade, a leptina está envolvida na regulação da massa corpórea. É considerada um importante marcador plasmático para a ingestão alimentar, estando reduzida no jejum e elevada na super alimentação (Orr & Davy, 2005; Büyükgebiz e cols, 2004; Park e cols, 2004; Reidy & Weber, 2000).

#### **1.9.b. A relação com Insulina:**

Durante a recuperação nutricional, a dieta hiperlipídica está associada à eficiência na deposição de gordura e hiperinsulinemia, quando comparada com uma dieta hiperglicídica (Crescenzo e cols, 2003). Na hiperfagia, característica da ingestão lipídica, a necessidade de insulina plasmática aumenta, por acelerar a síntese de tecido muscular e adiposo (Cettour-Rose e cols, 2005).

A insulina, hormônio polipeptídico produzido pelas células beta do pâncreas (Zecchin e cols, 2004), apresenta ação periférica anabólica, aumentando o estoque energético e potencializando o ganho ponderal e, uma ação central, catabólica, reduzindo a ingestão alimentar e aumentando o gasto energético ou termogênese, tal como a leptina (Niswender e cols, 2004).

Diversos estudos indicam que não somente a quantidade, mas também a fonte lipídica da dieta pode influenciar o nível de insulina e glicose na circulação (Grundy e cols, 2002). Riccardi e cols (2004) e Ghibaudi e cols (2002) estudando o efeito dos ácidos graxos sobre a ação da insulina, verificaram, em estudos experimentais com ratos, que os ácidos graxos saturados, o poliinsaturado n-6 (linoléico) e os monoinsaturados diminuem a ação da insulina, sendo dentre eles, o saturado de maior efeito inibitório. De forma contrária, o ácido graxo poliinsaturado n-3 (linolênico) melhora a ação da insulina.

### **1.9.c. A relação com Hormônios Tireóideos:**

Os hormônios tireóideos são os maiores determinantes da taxa metabólica basal em animais homeotérmicos, regulando o consumo de oxigênio, *turnover* do ATP e produção de calor (Curcio e cols, 1999), ou seja, tendo um papel importante na regulação da função anabólica e no gasto energético (Tulipano e cols, 2004).

A desnutrição protéica experimental na lactação está associada com maiores concentrações séricas de  $T_4$  e  $T_3$ , caracterizando um hipertireoidismo nesses animais na idade adulta; o que explica a baixa massa ponderal apresentada por estes animais também na idade adulta (Dutra e cols, 2003; Passos e cols, 2002). Os hormônios tireóideos induzem a lipólise, aumentando a oxidação lipídica, principalmente, de ácidos graxos de cadeia longa (14 a 24 carbonos), conseqüentemente, reduzindo a massa de tecido adiposo. Os ácidos graxos livres tornam-se a maior fonte energética para o coração, músculo esquelético e fígado (Kalderon e cols, 2000).

No entanto, a dieta hiperlipídica, promove a obesidade, reduzindo o estímulo para a oxidação lipídica ou o gasto energético (Axen e cols, 2003; Ghibaudi e cols, 2002),

reduzindo a expressão dos receptores dos hormônios tireóideos, que codificam enzimas lipogênicas. Esta alteração poderia estar relacionada ao desenvolvimento do tecido adiposo, durante os primeiros estágios da adipogênese (Redonnet e cols, 2001; Oppenheimer e cols, 1991).

## **1.10. A ação de óleos vegetais sobre o metabolismo lipídico**

### **1.10.a. Óleo de soja**

O óleo de soja é composto basicamente por 15% de ácido graxo saturado; 23% de ácidos graxos monoinsaturados; 8% de ácido graxo linolênico (C18:3n-3) e 54% de ácido graxo linoléico (C18:2n-6), ambos poliinsaturados. Logo, os ácidos graxos poliinsaturados correspondem a 62% da composição do óleo de soja (McDonald, 2005). Dados relativos à disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil (2002/2003), relatam que este óleo é mais consumido em todas as classes sociais, correspondendo a uma média de 82% do total de calorias oriundas de óleos e gorduras vegetais (Levy-Costa e cols, 2005).

O consumo de ácidos graxos C18:2n-6 e C18:3n-3 está associado com mudanças significativas nos níveis sanguíneos de VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade – *very low density lipoproteins*), LDL (Lipoproteína de baixa densidade – *low density lipoproteins*) e HDL (Lipoproteínas de alta densidade – *high density lipoproteins*) (Riccardi e cols, 2004), como pode ser visto na tabela 4.

**Tabela 3:** Efeitos dos ácidos graxos poliinsaturados (C18: 2n-6 e C18: 3n-3) sobre os níveis sanguíneos de lipoproteínas.

	VLDL	LDL	HDL
Ácido graxo linoléico (C18: 2n-6)	↓	---	---↓
Ácido graxo linolênico (C18: 3n-3)	↓↓	↑	---

(Adaptado de Riccardi e cols, 2004).

No entanto, como pode ser observado, o ácido graxo linoléico (C18: 2n-6), predominante no óleo de soja, pode atuar reduzindo os níveis sanguíneos de HDL, o que é considerado um significativo fator de risco, isolado, para doenças cardiovasculares (Noakes & Clifton, 1998).

### 1.10.b. Óleo de Canola

O óleo de canola é composto basicamente por 7% de ácido graxo saturado, 11% de ácido graxo linolênico (C18:3n-3) e 21% de ácido graxo linoléico (C18:2n-6), ambos poliinsaturados e 61% de ácidos graxos monoinsaturados (McDonald, 2005). O ácido graxo oléico (C18:1n-9), corresponde a 98% do total de ácidos graxos monoinsaturados presentes no óleo de canola (Przybylski, 2005). Dados relativos à disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil (2002/2003), relatam que este óleo (incluído no grupo dos “outros”) é pouco consumido em todas as classes sociais, correspondendo a uma média de 4,2% do total de calorias oriundas de óleos e gorduras vegetais (Levy-Costa e cols, 2005).

Na dieta do Mediterrâneo, 35 a 40% do total energético ingerido são fornecidos pelos lipídios dietéticos, sendo que desses, 67% provêm dos ácidos graxos monoinsaturados; fator esse associado com a baixa prevalência de doenças cardiovasculares

(Grundy e cols, 2002), sendo capaz de manter (Riccardi e cols, 2004) ou reduzir (Smith e cols, 2003) os níveis sanguíneos de VLDL, LDL e colesterol total, sem aumentar (NCEP, 2002) os de triglicerídeos. Em relação aos níveis sanguíneos de HDL, os achados são controversos. Enquanto o NCEP (*National Cholesterol Education Program*, 2002) relata que os ácidos graxos monoinsaturados resultam em pequena ou nenhuma redução deste. Ros (2003) relata estudos nos quais se verificou uma modesta elevação (4% a 7%) do HDL após ingestão de dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados. A concentração sérica de HDL aumentada é fator protetor para doenças cardiovasculares, visto estar relacionado com o transporte reverso do colesterol e seus efeitos protetores contra a aterosclerose (Dorfman e cols, 2005).

Em relação aos ácidos graxos saturados, maiores determinantes para a elevação dos níveis sanguíneos de LDL e conseqüentemente, das taxas de doenças cardiovasculares (NCEP, 2002), o óleo de canola apresenta o menor percentual (7%), quando comparado ao óleo de soja (15%) e a qualquer outro tipo de óleo (por exemplo, o óleo de oliva com 15%) (McDonald, 2005).

### **1.11. Justificativa**

A maioria dos estudos experimentais tem relatado os efeitos da recuperação nutricional utilizando dietas hiperlipídicas na desnutrição após o desmame e na vida adulta. Até o momento, poucos relatos focalizando a recuperação nutricional após a desnutrição em períodos críticos do desenvolvimento têm sido observados, notadamente durante a lactação.

### **1.12. Objetivos do estudo:**

Avaliar as repercussões fisiológicas do uso de óleos vegetais, ricos em ácidos graxos poliinsaturados ou monoinsaturados, em ratos tratados com dieta hiperlipídica, após terem sido submetidos à restrição alimentar durante a lactação.

### **1.13. Objetivos específicos:**

- Avaliar a ingestão alimentar.
- Avaliar o desenvolvimento físico.
- Analisar a adiposidade.
- Avaliar a interação dos indicadores de desenvolvimento físico e adiposidade.
- Quantificar a concentração sérica de albumina, glicose e o perfil lipídico.
- Quantificar as concentrações plasmáticas de leptina e hormônios tireóideos.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

## 2.1. Modelo experimental

Foram utilizados ratos Wistar gerados e mantidos no Biotério do Laboratório de Fisiologia Endócrina, IBRAG/UERJ, a uma temperatura média de  $25\pm 1^\circ\text{C}$  e com ciclo artificial de claro-escuro (Luz de 7 às 19h). Foi realizado o acasalamento dos animais e após fecundação, as fêmeas foram separadas dos machos e colocadas em gaiolas individuais, com acesso *ad libitum* à água e à ração comercial (Agrocere<sup>®</sup>, São Paulo), tabela 5, até o dia do nascimento da ninhada.

**Tabela 4:** Composição básica da ração comercial para ratos Agrocere<sup>®</sup>

Níveis de garantia	
Umidade (Máxima)	13%
Proteína bruta (Mínimo)	22%
Extrato Etéreo (Mínimo)	4%
Matéria Fibrosa (Máximo)	8%
Matéria Mineral (Máximo)	9%
Cálcio (Máximo)	1,40%
Fósforo (Mínimo)	0,80%

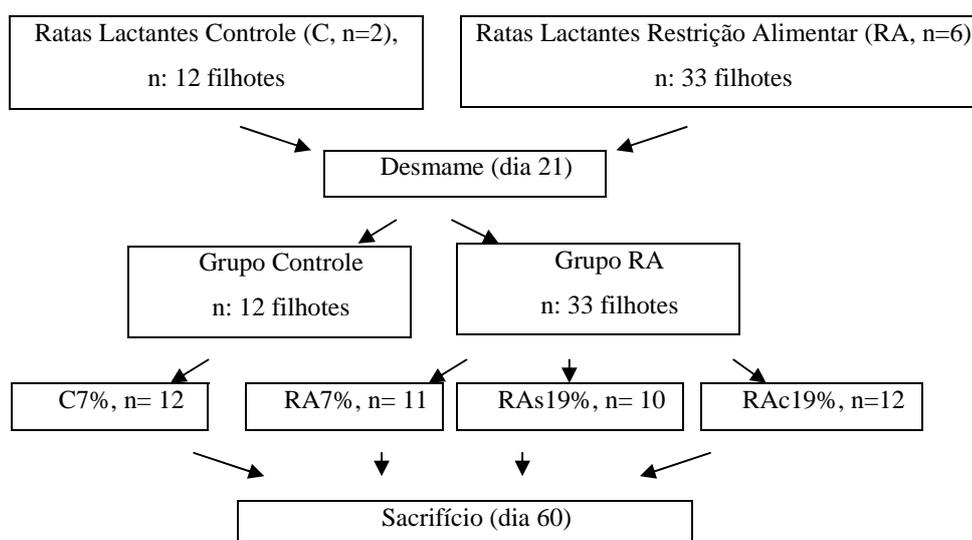
Descrição dos ingredientes: Cloreto de Sódio (Sal comum); Milho integral; Farelo de soja; Farelo de trigo; Fosfato Bicálcio; Carbonato de Cálcio; DL-Metionina; L-Lisina, HCL; Aditivo antioxidante; Premix Mineral e Vitamínico.

No dia do nascimento dos filhotes (dia 0) as ratas lactantes foram divididas em dois grupos: Grupo Controle (C, n=2), com livre acesso a ração comercial; Grupo Restrição Alimentar (RA, n=6), ração comercial restrita

da ração e o que sobrava após três dias. A massa corporal individual (g) foi avaliada utilizando-se balança Filizola modelo MF-3/1. O comprimento corporal (cm), intervalo entre a ponta da cauda e o focinho do animal, foi medido utilizando-se fita métrica inelástica sobre uma superfície rígida. Todos os parâmetros foram avaliados a cada três dias, até completarem 57 dias de idade. A razão entre a massa e o comprimento corporal (Duffy e cols, 2001) e o índice de massa corporal (Índice de Lee,  $\text{g}^{1/3}/\text{cm} \cdot 1000$ ) (Souza e cols, 2001) também foram calculados no mesmo intervalo de tempo.

O grupo de filhotes controle (n=12) e uma parte dos filhotes de mães submetidas à restrição calórica (n=11) durante a lactação foram alimentados com ração purificada AIN-93G (Reeves, 1997) contendo 7g de óleo soja para cada 100g de ração (C7% e RA7%). O restante dos animais cujas mães foram submetidas à restrição calórica durante a lactação recebeu a mesma dieta purificada, no entanto, contendo 19g de óleo de soja (RAs19%, n=10) ou de óleo de canola (RAc19%, n=12) para cada 100g de ração. Todos os grupos receberam ração purificada *ad libitum* até o dia 59, quando foram privados da alimentação durante 12 horas antes do sacrifício no dia 60 (Vide esquema mostrado na Figura 2).

**Figura 2:** Esquema do protocolo experimental.



## 2.2. Ração purificada

As rações foram produzidas, segundo Reeves (1997), do *American Institute of Nutrition* (AIN), no Laboratório de Nutrição Experimental, Faculdade de Nutrição/UFF (LABNE /UFF). Após a produção, as rações foram embaladas em sacos plásticos livres de oxigênio contendo no máximo 350 gramas e armazenadas à temperatura de  $\pm 5^{\circ}\text{C}$ . A composição das rações é mostrada na Tabela 6.

**Tabela 5:** Composição nutricional das rações purificadas, segundo o AIN-93G.

Conteúdo da ração	C7% e RA7% (g/100g)	RA <sub>s</sub> 19% (g/100g)	RA <sub>c</sub> 19% (g/100g)
Caseína <sup>1</sup>	20	20	20
Amido Milho <sup>2</sup>	54,34	42,02	42,02
Sacarose <sup>3</sup>	10	10	10
Óleo de Soja <sup>4</sup>	7	19,32	---
Óleo de Canola <sup>5</sup>	---	---	19,32
Fibra <sup>6</sup>	5	5	5
Mix Mineral <sup>7*</sup>	3,5	3,5	3,5
Mix Vitamínico <sup>8*</sup>	1	1	1
L-Cistina <sup>9</sup>	0,3	0,3	0,3
Bitartarato de Colina <sup>10</sup>	0,25	0,25	0,25
<b>Percentual Energético</b>	<b>Kcal%</b>	<b>Kcal%</b>	<b>Kcal%</b>
Carboidrato	65	45	45
Proteína	17	14	14
Lipídio	17	39	39
Kcal/g	4,7	5,8	5,8
<b>Ácidos graxos (%)</b>	<b>Em 7g de óleo</b>	<b>Em 19.32g de óleo</b>	<b>Em 19,32g de óleo</b>
Saturados	14,20%	14,20%	7%
Monoinsaturados	28,50%	28,50%	64,20%
Poliinsaturados	57,10%	57,10%	28,50%

Descrição dos ingredientes: 1 = Comercial Rhosther Indústria e Comercio LTDA; 2 = Extra ®; 3 = União ®; 4 = Liza ®; 5 = Salada Especial®; 6 = VETEC ® ; 7 e 8 = Preparado segundo AIN-93, composição do mix se encontra no anexo 7.1 e 7.2, respectivamente; 9 = VETEC ®; 10 = Proquímios ®. Modo de preparo: Durante a produção das rações foi utilizada uma balança de precisão (AB204-S, Metter Toledo®) para a pesagem dos mix mineral e vitamínico; batedeira industrial (Hobart®), para homogeneizar os ingredientes e uma estufa ventilada (Fabre-Primer®) a 50°C, por 24 horas.

## 2.3 Métodos

Ao final do período experimental, 60 dias de idade, todos os animais foram avaliados e sacrificados.

### 2.3.a Tomografia Computadorizada (TC)

Para a análise do tecido adiposo por TC, foi utilizado o tomográfico Helicoidal HiSpeed (General Electric), do Serviço de Radiologia do Centro Universitário de Controle do Câncer (CUCC /HUPE /UERJ) baseado no protocolo de aquisição helicoidal, usando cortes axiais na espessura de 3mm e colimação de 1,5mm. Foram realizadas medidas da espessura do tecido adiposo intra-abdominal e intra-peritoneal. A técnica utilizada para análise da área de gordura abdominal foi semelhante à técnica validada por Yoshizumi e cols (1999), para seres humanos.

Para a realização deste procedimento, os ratos foram anestesiados com injeção intra-peritoneal de Pentobarbital sódico (Thiopentax, Cristália®) a 0,1ml/ 100g e colocados na mesma posição anatômica na esteira do equipamento, de acordo com a técnica validada por Ross e cols (1991), para ratos.

A análise das imagens foi efetuada a partir do programa DicomWorks v1.3.5 (<http://dicom.online.fr/>), através de cálculo automático da área de tecido adiposo intra-abdominal e intra-peritoneal em cm<sup>2</sup>, sempre no mesmo corte axial. A circunferência abdominal (área total, que engloba o visceral e o subcutâneo) e intra-peritoneal (área visceral) foram delineadas com o cursor para a obtenção da área de tecido adiposo intra-abdominal e intra-peritoneal, respectivamente, como ilustrado nos anexos 7.3 e 7.4.

### **2.3.b Determinação de glicemia**

A glicose foi determinada na circulação periférica, através de incisão na cauda e coleta de uma gota de sangue, para análise em glicosímetro (ACCU-CHEK® Advantage), utilizando-se fitas reagentes (ACCU-CHEK® Advantage). Resultados de glicemia foram expressos em mg/dL.

### **2.3.c. Coleta de sangue**

A coleta de sangue foi realizada logo após a tomografia computadorizada, com o rato ainda sob efeito de anestesia. Animais foram decapitados e o sangue foi coletado em tubos de ensaio contendo EDTA ou não, para obtenção de plasma e soro, respectivamente. Os tubos foram centrifugados (Z360K, HERMLE®) a 1500 rpm e 3000 rpm por 5 minutos, sendo o plasma e o soro obtidos, armazenados à  $-20^{\circ}\text{C}$ , para análises posteriores.

### **2.3.d. Obtenção dos tecidos**

Após a coleta do sangue, foram excisados e pesados (massa absoluta expressa em gramas) os tecidos: coração, cérebro, fígado, baço, testículo, rins e gordura visceral. Posteriormente, os pesos foram ajustados em relação à massa corporal (massa relativa expressa em percentual). Após análise da massa absoluta, a gordura visceral foi transferida para a cavidade abdominal da carcaça e as vísceras descartadas. As carcaças foram pesadas e armazenadas à  $-15^{\circ}\text{C}$ , para posterior análise.

### **2.3.e Avaliação do conteúdo de gordura da carcaça**

O conteúdo lipídico das carcaças foi determinado segundo adaptação do método descrito por Leshner e cols (1972). As carcaças, sem as vísceras, foram amolecidas em autoclave (IC-18L, ICAMO®) por 1 hora e homogeneizadas em água destilada na proporção 1:1. Alíquotas contendo 3g do homogeneizado foram separadas para a determinação do conteúdo de gordura, por método gravimétrico. As alíquotas foram hidrolisadas em banho-maria a 70°C por 2 horas na presença de KOH 30% e de etanol absoluto e, após acidificação com ácido sulfúrico 6M, os ácidos graxos totais e o colesterol livre foram extraídos mediante 3 lavagens sucessivas com éter de petróleo. O material foi transferido para um recipiente previamente pesado, e posteriormente foi levado à capela de exaustão até ficar bem seco, para a realização da pesagem. Após a pesagem, as diluições foram corrigidas e os resultados foram expressos em gramas de gordura por 100 gramas de carcaça.

### **2.3.f Concentração plasmática de leptina, tiroxina (T<sub>4</sub>) e triiodotironina (T<sub>3</sub>)**

A leptina plasmática foi analisada pelo método de radioimunoensaio (KIT da Linco Research, Inc.). T<sub>3</sub> total e T<sub>4</sub> livre foram avaliados por radioimunoensaio (RIA) usando-se Kit comercial (MP Biomedicals, Inc.). O coeficiente de variação intra e inter-ensaio para a determinação de T<sub>4</sub> foi de 3,3-1% e 5,3-11,4%, respectivamente. Já para o T<sub>3</sub>, o coeficiente de variação intra-ensaio foi de 5,6%. As concentrações plasmáticas desses hormônios foram expressas em ng/ml, µg/d e ng/dL, respectivamente.

### **2.3.g Concentração sérica de albumina, triglicerídios, colesterol e HDL – colesterol**

Através de método colorimétrico, utilizando-se Kits comerciais (Bioclin®) e o Espectrofotômetro (TU-1800, UV-VIS®) foram analisados, em duplicata, os níveis séricos de albumina, triglicerídios, colesterol e HDL-colesterol.

A análise colorimétrica da albumina utiliza a técnica chamada de “erro protéico dos indicadores”, na presença da albumina, o verde de bromocresol forma um complexo corado que exibe espectro de absorção diferente do corante no seu estado livre. A dosagem de triglicerídios utilizou o método enzimático com reações sequenciais com as enzimas glicerolquinase, glicerofosfatoxidase e peroxidase. Para colesterol, utilizou-se o método de colesterol-oxidase. Para o HDL-colesterol, foi utilizada a técnica em que se dosa o colesterol ligado ao HDL, após precipitação das lipoproteínas VLDL, LDL e dos quilomícrons com a mistura de Ácido fosfotúngstico e Cloreto de magnésio.

Os resultados de albumina são expressos em g/dL, enquanto os demais são expressos em mg/dL.

### **2.4. Análise estatística**

Para a análise dos dados de massa e comprimento corporal no dia 21, ao final do período de lactação, foi utilizado o Student *t* teste. Após o desmame, os dados de consumo alimentar, ganho ponderal, comprimento, relação massa corporal e comprimento e o índice de Lee foram analisados através do método de análise de variância (ANOVA) bivariada, seguida do pós-teste de Bonferroni. Para os demais resultados foi utilizado o método de análise de variância (ANOVA) univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla

Newman Keuls. Todos os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), considerando o nível de significância de  $p < 0,05$ .

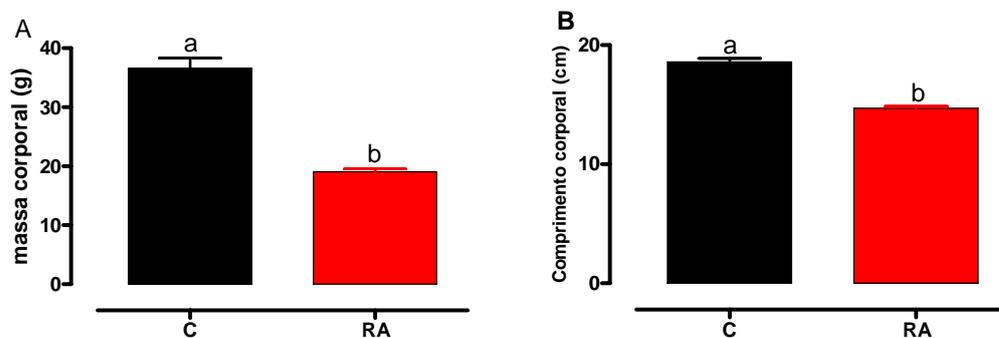
## **2.5. Comissão de Ética**

O presente estudo, com protocolo nº CEA/100/2005, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEA).

### **3. RESULTADOS**

### 3.1. Massa e comprimento corporal ao final de 21 dias de lactação

O gráfico 1 mostra a massa e comprimento corporal dos animais ao final de 21 dias de lactação, quando foi realizado o desmame. Em ambas as análises foi verificado que os filhotes de mães submetidas à restrição alimentar (RA) aos 21 dias de lactação, apresentaram massa (C:  $36,63 \pm 1,68$  g; RA:  $19,05 \pm 0,48$  g) e comprimento corporal (C:  $18,58 \pm 0,30$  cm; RA:  $14,70 \pm 0,15$  cm) significativamente menor do que o observado no grupo controle (C).



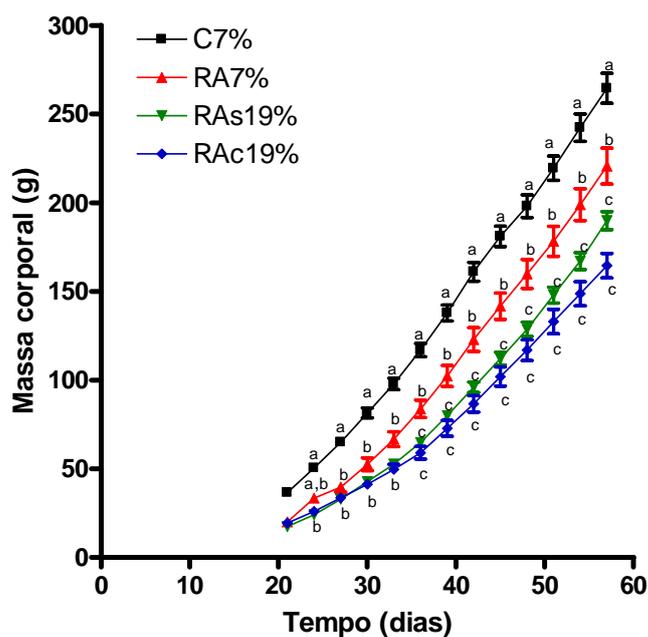
**Gráfico 1:** Massa corporal (A) e comprimento corporal (B) dos filhotes ao final de 21 dias de lactação, nos grupos C (controle, n= 12) e RA (restrição alimentar, n= 33). Valores são expressos como média $\pm$ epm. Colunas com letras diferentes são estatisticamente diferentes. (t de *Student*,  $p < 0,05$ ).

### **3.2. Consumo alimentar**

O gráfico 2 mostra o consumo alimentar dos animais após o desmame, do dia 21 até o dia 57, quando foi realizada a última avaliação antes do sacrifício, no dia 60. Apesar das diferenças entre os grupos C7%, RA7% e os grupos RA19%, o consumo sempre menor dos grupos RAs19% e RAc19% só se tornaram estatisticamente significativos a partir do dia 36, em relação aos grupo C7%. O grupo RA7% apresentou um consumo intermediário

### 3.3. Evolução da massa corporal

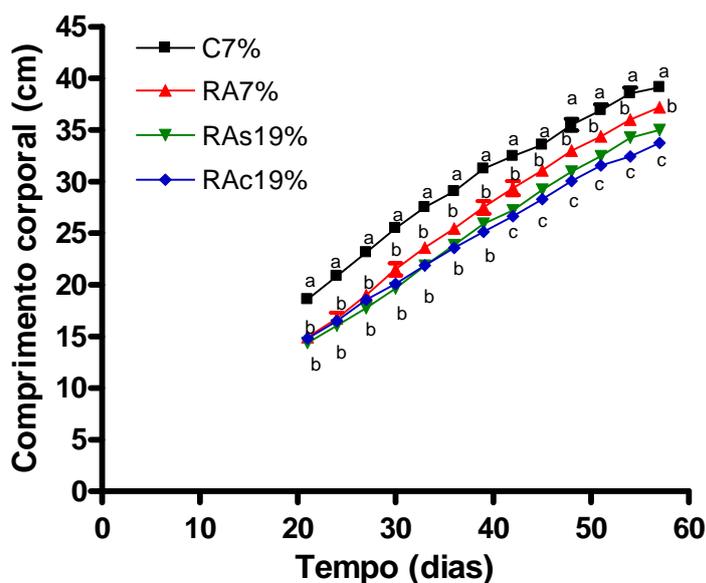
O gráfico 3 mostra a evolução da massa corporal dos animais após o desmame, no dia 21, até o dia 57, quando realizado a última avaliação antes do sacrifício, no dia 60. Os grupos RA apresentaram evolução da massa corporal menor que o grupo C7%, do dia 21 até o final da avaliação, sendo estatisticamente significativo a partir do dia 24 nos grupos RAs19% e RAc19%; e a partir do dia 27 no grupo RA7%. Entre os grupos RA soja e canola 19%, a evolução foi similar e significativamente menor que do grupo RA7%, a partir do dia 36. Dados em detalhes, relativos à evolução da massa corporal dos quatro grupos estão disponíveis no anexo 7.6.



**Gráfico 3:** Evolução da massa corporal, entre os dias 21 e 57, da prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=12) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=11) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=10) ou com óleo de canola (RAc19% n=12), após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Linhas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA bivariada, seguida do pós-teste Bonferroni,  $p < 0,05$ , C7% versus os grupos RA7% e RA19%, a partir dos dias 27 e 24, respectivamente.  $p < 0,05$ , RE7% versus grupos RAs19% e RAc19%, a partir do dia 36).

### 3.4. Evolução do comprimento corporal

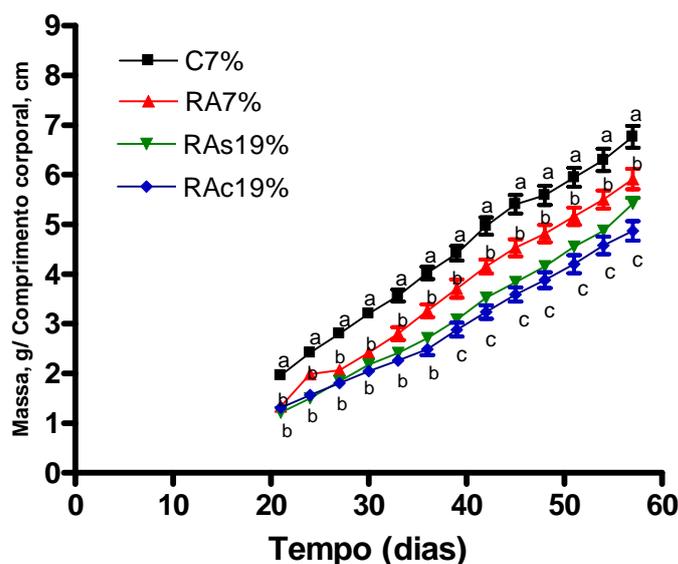
O gráfico 4 mostra a evolução do comprimento corporal dos animais após o desmame, no dia 21, até o dia 57, quando realizado a última avaliação antes do sacrifício, no dia 60. Os animais do grupo RA apresentaram menores valores de comprimento ao longo da avaliação, quando comparados ao grupo C. Os grupos RAs19% e RAc19% apresentaram evolução similar durante toda a avaliação e menor que a do grupo RA7%, a partir do dia 42. Dados em detalhes, relativos à evolução do comprimento corporal dos quatro grupos estão disponíveis no anexo 7.7.



**Gráfico 4:** Comprimento corporal, dos 21 aos 57 dias de idade da prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=12) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=11) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=10) ou com óleo de canola (RAc19%, n=12), após desmame. Valores são apresentados como média±epm. Linhas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA bivariada, seguida do pós-teste Bonferroni,  $p < 0,05$ , C7% versus os grupos RA, a partir do dia 21.  $p < 0,05$ , RA7% versus grupos RAs19% e RAc19%, a partir do dia 42).

### 3.5. Razão entre a massa e comprimento corporal

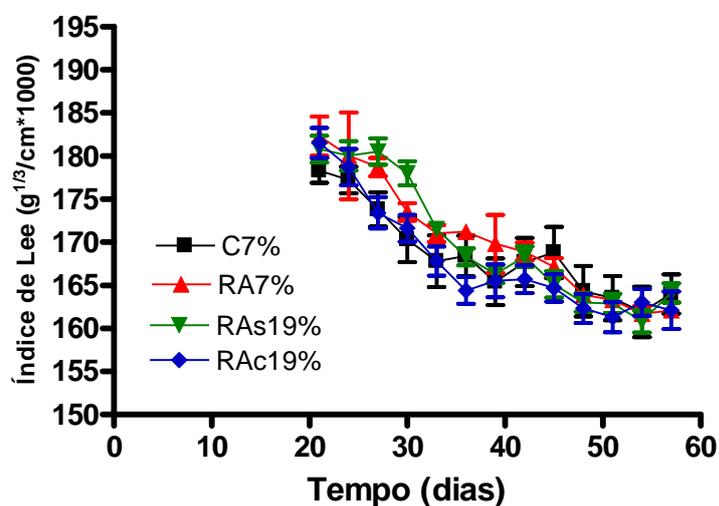
O gráfico 5 mostra a razão entre a massa e o comprimento corporal dos animais após o desmame, do dia 21 até o dia 57, quando realizado a última avaliação antes do sacrifício, no dia 60. Os grupos RA apresentaram menor razão entre a massa e o comprimento corporal ao longo da avaliação, quando comparados ao grupo C7%. Em relação aos grupos RAs19% e RAc19%, apresentaram evolução similar durante toda a avaliação e menor que a do grupo RA7% a partir do dia 39. Dado em detalhes relativos à evolução da razão entre a massa e o comprimento corporal dos quatro grupos estão disponíveis no anexo 7.8.



**Gráfico 5:** Razão entre a massa e o comprimento corporal, do dia 21 ao 57, da prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=12) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=11) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=10) ou com óleo de canola (RAc19%, n=12), após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Linhas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA bivariada, seguida do pós-teste Bonferroni,  $p < 0,05$ , C7% versus os grupos RA, a partir do dia 21.  $p < 0,05$ , RA7% versus grupos RAs19% e RAc19%, a partir do dia 39).

### 3.6. Índice de massa corporal (Índice de Lee)

O gráfico 6 mostra a evolução do índice de massa corporal dos animais após o desmame, do dia 21 ao dia 57, quando realizado a última avaliação antes do sacrifício, no dia 60. Ao longo da avaliação, não foi encontrada qualquer diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Dados em detalhes, relativos à evolução do índice de massa corporal dos quatro grupos estão disponíveis no anexo 7.9.



**Gráfico 6:** Índice de massa corporal, do dia 21 aos 57, da prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7% n=12) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7% n=11) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=10) ou com óleo de canola (RAc19%, n=12), após desmame. Valores são apresentados em média  $\pm$ epm. (ANOVA bivariada, seguida do pós-teste Bonferroni).

### 3.7. Massa absoluta dos tecidos

A tabela 6 mostra a massa absoluta, em gramas, do baço, cérebro, coração, fígado, rins e testículos dos animais no dia 60. A massa absoluta destes tecidos foi, em geral, menor nos grupos RA que a do grupo controle aos 60 dias de vida. Os grupos RA7%, RAs19%, RAc19% apresentaram menor massa absoluta de cérebro. No caso do coração, o grupo RAc19% apresentou a menor massa absoluta em relação aos demais grupos. Os rins e testículos dos grupos RAs19% e RAc19% apresentaram massa absoluta menor que aqueles observados nos grupos C7% e RA7%. Quanto ao baço, o grupo RAc19% foi o que teve o menor valor de massa, comparado aos demais grupos estudados. O fígado dos grupos RAs19% e RAc19% apresentaram a menor massa absoluta em relação ao grupo C7%, enquanto o grupo RA7%, não apresentou diferença entre os demais grupos, tendo sua massa hepática, valores intermediários entre C7% e os RA19%.

**Tabela 6:** Massa absoluta (g) dos órgãos aos 60 dias

Órgão (g)	C7%	RA7%	RAs19%	RAc19%
Baço	1,21±0,13 <sup>a</sup>	1,30±0,09 <sup>a</sup>	1,27±0,09 <sup>a</sup>	0,89±0,06 <sup>b</sup>
Cérebro	1,87±0,05 <sup>a</sup>	1,70±0,04 <sup>b</sup>	1,58±0,04 <sup>b</sup>	1,58±0,03 <sup>b</sup>
Coração	1,09±0,03 <sup>a</sup>	0,96±0,03 <sup>b</sup>	0,91±0,03 <sup>b</sup>	0,77±0,02 <sup>c</sup>
Fígado	12,07±0,48 <sup>a</sup>	10,95±0,44 <sup>a,b</sup>	10,16±0,34 <sup>b</sup>	9,42±0,31 <sup>b</sup>
Rins	2,21±0,09 <sup>a</sup>	1,90±0,08 <sup>b</sup>	1,67±0,02 <sup>c</sup>	1,48±0,05 <sup>c</sup>
Testículos	2,59±0,06 <sup>a</sup>	2,17±0,05 <sup>b</sup>	1,93±0,03 <sup>c</sup>	1,81±0,06 <sup>c</sup>

Prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=12) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=11) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=10) ou com óleo de canola (RAc19%, n=12), após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Linhas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls. <sup>a,b,c</sup>  $p < 0,05$  entre os grupos).

### 3.8. Massa relativa dos tecidos

A tabela 7 mostra a massa relativa, em percentual, dos tecidos avaliados no dia 60. O grupo RAs19% apresentou maior massa do baço que o grupo C7%, enquanto os demais grupos apresentaram valores intermediários sem diferença significativa. Quanto ao cérebro, os grupos RA7% e RAs19% apresentaram massa semelhante e maior que do grupo C7%, enquanto que o grupo RAc19% apresentou maior massa que a dos demais grupos. Os grupos RAs19% e RAc19%o apresentaram maior massa do coração que a observada no grupo C7%, enquanto o grupo RA7% apresentou uma massa intermediária sem diferença significativa. A massa do fígado, nos grupos RA7% e RAs19% foi maior que a do grupo C7% e a do grupo RAc19% foi maior que a dos demais grupos. Quanto ao testículo, observamos maior massa no grupo RAc19% em relação aos demais grupos estudados. O único tecido que não apresentou diferenças nos valores da massa foi o rim.

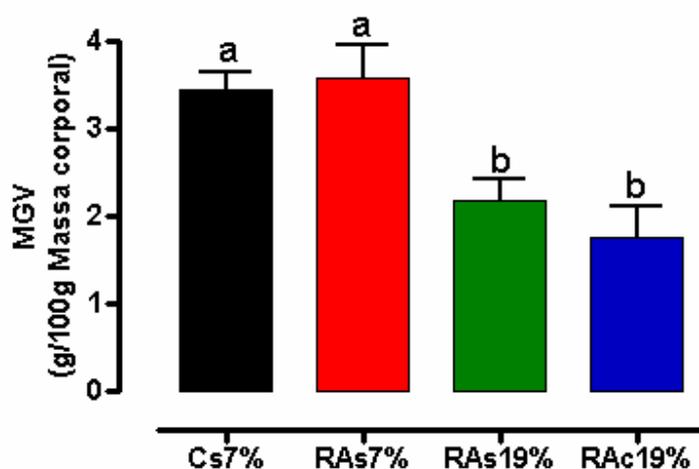
**Tabela 7:** Massa relativa dos órgãos, aos 60 dias

Órgão (%)	C7%	RA7%	RAs19%	RAc19%
Baço	0,45±0,05 <sup>a</sup>	0,60±0,06 <sup>a,b</sup>	0,65±0,05 <sup>b</sup>	0,55±0,04 <sup>a,b</sup>
Cérebro	0,71±0,02 <sup>a</sup>	0,78±0,02 <sup>a,b</sup>	0,82±0,02 <sup>b</sup>	0,97±0,03 <sup>c</sup>
Coração	0,41±0,00 <sup>a</sup>	0,44±0,01 <sup>a,b</sup>	0,47±0,02 <sup>b</sup>	0,47±0,01 <sup>b</sup>
Fígado	4,57±0,14 <sup>a</sup>	4,99±0,16 <sup>b</sup>	5,25±0,17 <sup>b</sup>	5,74±0,11 <sup>c</sup>
Rins	0,83±0,02 <sup>a</sup>	0,86±0,01 <sup>a</sup>	0,86±0,01 <sup>a</sup>	0,90±0,01 <sup>a</sup>
Testículos	0,98±0,01 <sup>a</sup>	0,99±0,03 <sup>a</sup>	1,00±0,02 <sup>a</sup>	1,10±0,03 <sup>b</sup>

Prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=12) e da prole cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=11) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=10) ou com óleo de canola (RAc19%, n=12), após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Linhas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls. <sup>a,b,c</sup>  $p < 0,05$  entre os grupos).

### 3.9. Massa relativa de gordura visceral (MGV)

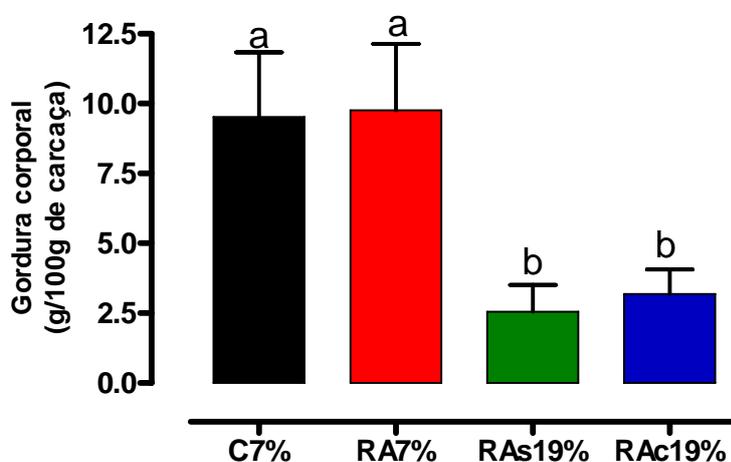
A avaliação da massa relativa de gordura visceral (MGV) dos animais, em percentual, aos 60 dias, mostrou que os grupos RAs19% ( $2,17 \pm 0,25\%$ ) e RAc19% ( $1,76 \pm 0,33\%$ ) apresentam percentuais semelhantes entre si e menores que os dos grupos C7% ( $3,45 \pm 0,19\%$ ) e RA7%. ( $3,58 \pm 0,37\%$ ). Esses resultados podem ser observados no gráfico 7.



**Gráfico 7:** Massa relativa de gordura visceral (%) aos 60 dias. Prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=8) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=8) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=8) ou com óleo de canola (RAc19%, n=8) após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Colunas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls.  $p < 0,05$ , entre os grupos).

### 3.10. Percentual de gordura corporal

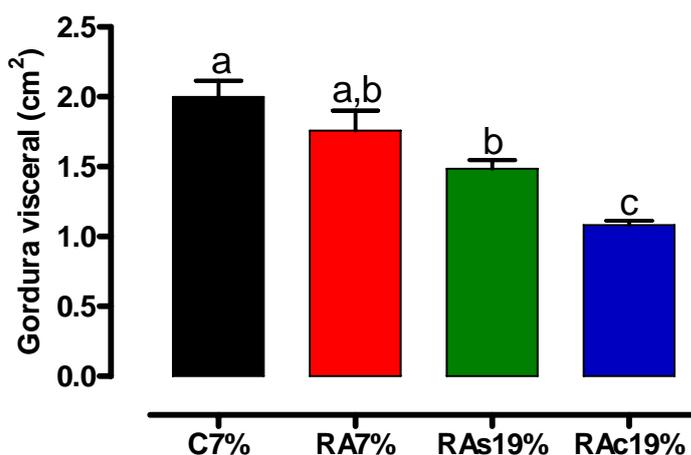
A análise do conteúdo de gordura corporal, aos 60 dias, mostrou que os grupos RAs19% ( $2,54 \pm 0,96\%$ ) e RAc19% ( $3,18 \pm 0,88\%$ ) têm um menor percentual, quando comparados aos grupos C7% ( $9,51 \pm 2,32\%$ ) e RA7% ( $9,76 \pm 2,37\%$ ). Esses resultados são mostrados no gráfico 8.



**Gráfico 8:** Percentual de gordura corporal, aos 60 dias, da prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=8) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=8) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=8) ou com óleo de canola (RAc19%, n=8) após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Colunas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls.  $p < 0,05$ , entre os grupos).

### 3.11. Área de gordura visceral analisada por tomografia computadorizada

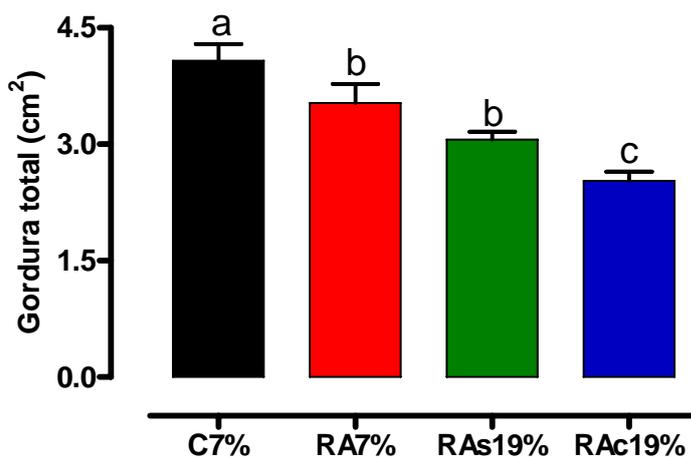
A análise quantitativa de gordura visceral, nas imagens de abdomens obtidas por tomografia computadorizada, mostrou que os grupos RA (RA7%:  $1,75 \pm 0,14$ ; RAs19%:  $1,48 \pm 0,06$ ; RAc19%:  $1,08 \pm 0,03$  cm<sup>2</sup>) apresentam área menor do que o grupo C7% ( $1,99 \pm 0,11$  cm<sup>2</sup>). No entanto, entre C7% e RA7% e entre RA7% e RAs19% não há diferença significativa. O grupo RAc19% apresenta menor área que os outros três grupos. Esses resultados são mostrados no gráfico 9. No anexo 7.3, esta disponível um exemplo de imagem obtida e analisada.



**Gráfico 9:** Área de gordura visceral aos 60 dias, da prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=12) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=11) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=10) ou com óleo de canola (RAc19%, n=12) após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Colunas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls.  $p < 0,05$ , entre os grupos).

### 3.12. Área de gordura total analisada por tomografia computadorizada

A análise quantitativa da gordura total, nas imagens de abdomens obtidas por tomografia computadorizada mostrou que os grupos RA (RA7%: $3,53\pm 0,24$ ; RAs19%: $3,06\pm 0,09$ ; RAc19%: $2,52\pm 0,11$  cm<sup>2</sup>) apresentaram uma área significativamente menor do que o grupo C7% ( $4,07\pm 0,21$ cm<sup>2</sup>). No entanto, entre os grupos RA só há diferença entre RA7% e RAc19% e entre RAs19% e RAc19%. O grupo RAc19% apresentou a menor área em relação aos demais. Esses resultados são mostrados no gráfico 10. No anexo 7.4, esta disponível um exemplo de imagem obtida e analisada.



**Gráfico 10:** Área de gordura total aos 60 dias, da prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=12) e das proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=11) ou suplementada com óleo de soja (RAs19%, n=10) ou com óleo de canola (RAc19%, n=12) após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Colunas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls.  $p < 0,05$ , entre os grupos).

### 3.13. Avaliações bioquímicas

Não se evidenciou, em nenhum dos grupos estudados, diferenças significativas nas concentrações séricas de glicose, albumina, triglicerídios, colesterol e HDL colesterol nos animais com 60 dias de idade. A tabela 8 mostra o resultado dessas análises.

**Tabela 8:** Avaliações bioquímicas aos 60 dias de idade.

Parâmetros	C7%	RA7%	RA <sub>s</sub> 19%	RA <sub>c</sub> 19%
Glicose, mg/dL	85,8±3,2	87,0±4,3	87,9±2,9	90,9±3,13
Albumina, g/dL	3,54±0,16	3,28±0,15	3,56±0,18	3,25±0,17
Triglicérides, mg/dL	65,13±3,73	65,26±6,1	54,61±6,40	59,4±3,42
Colesterol, mg/dL	95,25±11,0	93,41±5,9	100,6±10,99	97,7±10,3
HDL-colesterol, mg/dL	47,6±3,46	47,5±4,8	60,6±3,8	56,1±4,0

Avaliações de glicemia, albumina, triglicerídios, colesterol e HDL-colesterol aos 60 dias, na prole controle, alimentada com dieta normo-lipídica (C7%, n=12) e nas proles cujas mães sofreram restrição energética durante a lactação e foram alimentados com ração normo-lipídica (RA7%, n=11) ou suplementada com óleo de soja (RA<sub>s</sub>19%, n=10) ou com óleo de canola (RA<sub>c</sub>19%, n=12), após desmame. Valores são apresentados em média±epm. Colunas com a mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls.  $p < 0,05$ , entre os grupos).



## **4. DISCUSSÃO**

#### **4.1. Período de lactação**

A restrição alimentar materna, neste modelo por nós estudado, propiciou a geração de uma prole com deficiência em massa e comprimento corporal ao final de 21 dias de lactação. Esse resultado corrobora com relatos prévios de nosso laboratório (Vicente e cols, 2004; Passos e cols, 2002; Passos e cols, 2001; Ramos e cols, 2000; Ramos e cols, 1997) e de outros grupos (Desai e cols, 2005a; Alippi e cols, 2002; Monteiro e cols, 2001). Esse quadro pode ser desencadeado pela desnutrição proteíco-calórica, na qual ocorre uma redução no volume de leite materno, afetando o desenvolvimento físico da prole (Cambraia e cols, 2001; Roberts e cols, 1985).

#### **4.2. Período de nutrição experimental, após desmame.**

##### **4.2.a. Consumo alimentar e evolução da massa e comprimento corporal:**

Ao longo do período de nutrição experimental, após o desmame, o grupo desnutrido que recebeu ração manipulada contendo 7% de óleo de soja (RA7%) apresentou consumo alimentar e ganho em massa corporal menor que o do grupo C7%, como verificado, anteriormente, nos modelos experimentais de Desai e cols (2005b). Quanto ao comprimento corporal desse grupo, a restrição alimentar na lactação foi caracterizada por um menor desenvolvimento em relação ao grupo controle. O que pode estar associado a menor expressão do hormônio do crescimento neste período (Moura e cols, 2007). Esse mesmo padrão foi observado por Alippi e cols (2002), que estudaram a restrição alimentar na gestação. Em uma revisão recente (Idohou-Dossou e cols, 2003), foram relatados

estudos em que a restrição alimentar, em ratos e em crianças, esteve associada com uma queda na concentração sérica de osteocalcina e na mineralização óssea.

Os grupos desnutridos que receberam rações hiperlipídicas, contendo óleo de soja ou de canola (RA 19%), ao contrário de nossas expectativas, apresentaram menor desenvolvimento corporal, quando comparados aos demais grupos. Dados semelhantes aos nossos, foram observados por Gutierrez e cols (1994) e Fernandez e cols (1997) que avaliaram ratos desnutridos ao longo da gestação e da lactação, oferecendo após o desmame ração hiperlipídica, contendo óleo de soja ou de oliva. Verificaram que, independente da fonte lipídica, a dieta experimental não recuperou a massa e o comprimento corporal dos animais.

Em modelo de desnutrição experimental realizado após o desmame, os animais foram capazes de recuperar a massa corporal, quando utilizada tanto a ração normocalórica (Cettour-Rose e cols, 2005; Boza e cols, 1999), quanto a hiperlipídica (Crescenzo e cols, 2003). Sendo relatada uma ingestão espontânea de alimento aumentada até que estes animais recuperem a massa ponderal perdida (Havel, 2000; Harris 1980).

Ozanne e cols (2004) e Hales & Ozanne (2003) investigando a desnutrição protéica, em ratos, relataram que ocorrendo a restrição nutricional durante a gestação, os filhotes apresentam intensa recuperação do desenvolvimento físico (efeito *catch-up*), na vida pós-natal. No entanto, quando a mesma restrição ocorre durante a lactação, os animais desenvolvem uma resistência ao efeito *catch-up*, com menor desenvolvimento corporal ao longo da vida; apresentando uma redução no consumo de ração, inclusive aquelas altamente palatáveis, como a dieta de cafeteria. Os mesmos autores atribuem estes achados a uma permanente diminuição do apetite após a restrição nutricional no período de lactação. Bellinger e cols (2004) relatam que a restrição alimentar na gestação resultou em filhotes

hiperfágicos, com reduzida atividade física e que desenvolveram obesidade quando alimentados com ração hiperlipídica. É possível, que o contrário tenha ocorrido em nosso estudo, sendo verificado um padrão hipofágico nos animais alimentados com rações hiperlipídicas, após a RA na lactação, ou seja, uma resistência ao efeito catch-up.

Os resultados da relação entre a massa e comprimento corporal, demonstraram que ambas as medidas evoluíram de maneira similar, em todos os grupos acompanhados. Ao contrário, Uauy & Kain (2002) relataram que em muitos centros de reabilitação nutricional (NRC, *nutrition rehabilitation centre*), priorizam a recuperação ponderal, estimulando a elevada ingestão alimentar e um balanço energético positivo, visando o ganho de massa ponderal pelas crianças. No entanto, verifica-se um pequeno ou nenhum ganho de comprimento para a idade, aumentando a relação destas duas medidas antropométricas, o que caracteriza uma transição da desnutrição para o sobrepeso e obesidade.

Em relação ao índice de massa corporal (Índice de Lee), outra medida utilizada para se acompanhar a evolução do desenvolvimento corporal, verificamos não haver diferença entre os grupos, caracterizando que devem ter proporções corporais semelhantes. Mas, como veremos adiante, estes animais apresentam diferença na proporção de tecido adiposo, mostrando que o índice de Lee (tal como o IMC, para os seres humanos) não é um bom parâmetro para medida da adiposidade.

#### **4.2.b. Massa dos tecidos**

Waterland e Garza (1999) relataram que a diferenciação celular continua na vida pós-natal. No entanto, a desnutrição em períodos críticos da vida, pode alterar a estruturas

dos órgãos, alterando a vascularização e inervação, além de mudanças na justaposição, número e tamanho das células.

Em estudo com ratos desnutridos na gestação e/ou lactação, Desai e cols (2005b) verificaram que na vida adulta, o cérebro, o coração, o pulmão e o rim apresentaram um desenvolvimento menor do que o dos animais não desnutridos. Em nosso estudo, após o período de nutrição experimental, verificamos que o desenvolvimento em massa absoluta e relativa dos órgãos pode ser dependente do tipo e quantidade de óleo vegetal presente na ração. Estes podem alterar os efeitos causados pela restrição alimentar, em períodos críticos da vida, sobre desenvolvimento dos órgãos. A avaliação da massa relativa dos órgãos no grupo alimentado com ração contendo óleo de canola (RAc19%) mostrou uma priorização para o desenvolvimento do fígado, testículos e cérebro, quando comparado aos demais grupos. Em relação ao grupo RAs19%, o baço foi o órgão que mais se desenvolveu, seguido pelo cérebro. Em ambos os grupos alimentados com ração hiperlipídica, o coração foi beneficiado de forma similar, embora se note uma tendência ao maior desenvolvimento no grupo RAc19%. Esta preservação dos órgãos vitais (cérebro, coração, gônadas) em relação à musculatura e tecido adiposo, pode ter conseqüências metabólicas e funcionais futuras. Ao contrário do descrito para a programação pela desnutrição protéica (Nwagwu e cols, 2000; Desai e cols, 2005b), neste nosso modelo não encontramos diferença na massa relativa do rim.

#### **4.2.c. Tecido adiposo, Leptina e Hormônios Tireóideos**

O grupo RA7% apresentou um percentual de tecido adiposo corporal e visceral semelhante ao do grupo C7%, mesmo tendo massa corporal menor. Esse resultado pode

estar evidenciando uma transição da desnutrição para a obesidade. A mesma transição foi verificada por Teixeira e cols (2002) a partir dos 60 dias de vida de ratos submetidos a RA na lactação e alimentados com ração normolipídica após o desmame.

Estudos com ratos mostraram que a proliferação do tecido adiposo ocorre após o nascimento e continua até os 80 dias de vida, aproximadamente, sendo influenciada por fatores como, hormônios, temperatura, idade e ingestão alimentar (Greenwood & Hirsch, 1974). Quando ratos são submetidos à restrição alimentar durante os primeiros 21 dias de vida, na lactação, ocorre uma redução no número e tamanho dos adipócitos, na vida adulta (Greenwood & Hirsch, 1974; Hirsch & Han, 1969). Ao contrário, após desnutrição na gestação, Bieswal e cols (2004), verificaram uma programação no desenvolvimento do tecido adiposo, com um conseqüente aumento no estoque de gordura na vida adulta, associada à obesidade. Entretanto, os mecanismos pelos quais a desnutrição modifica o desenvolvimento do tecido adiposo continuam obscuros.

Nos grupos RA 19%, a ração hiperlipídica não contribuiu para o depósito de gordura corporal nem visceral. Quando avaliadas crianças, com idade entre 8-11 anos, desnutridas, foi verificado um elevado quociente respiratório e reduzida oxidação lipídica. Conseqüentemente, elevada deposição de gordura e risco para a obesidade, após ingestão de uma dieta hiperlipídica (Hoffman e cols, 2000; Sawaya e cols 1998). O elevado depósito de gordura e obesidade também foi verificado após a ingestão de dieta de cafeteria em ratos submetidos ao modelo de desnutrição protéica na gestação (Ozanne e cols, 2004; Cripps e cols; 2005). Esses resultados demonstram que a oxidação do tecido adiposo pode ser influenciada pelo período de vida em que ocorre a restrição alimentar, o tipo de restrição e como é realizada a recuperação nutricional.

Outros autores relataram que, durante o tratamento experimental da desnutrição, a reconstituição do tecido adiposo corporal é influenciada pelo tipo de óleo vegetal presente na dieta hiperlipídica (Dulloo e cols, 1995) e, que o desenvolvimento dos adipócitos nos diferentes compartimentos corporais é região-dependente do tipo de fonte lipídica ingerida (Shillaber & Lau, 1994). No entanto, nenhum trabalho anterior avaliou, através de Tomografia Computadorizada, a massa de tecido adiposo visceral. Em 2004, Anjana e cols relataram que a obesidade contribui para a resistência insulínica e o diabetes mellitus, sendo essas alterações metabólicas elevadas na população urbana da Índia, a qual apresenta IMC menor e relação cintura quadril maior que a de Europeus. Demonstrando que a distribuição do tecido adiposo na região abdominal é tão importante quanto o IMC para o risco de desordens metabólicas (Miyawaki e cols, 2004; Yucel e cols, 2004).

Diversas técnicas vem sendo desenvolvidas para avaliar o tecido adiposo abdominal. Medidas antropométricas, como avaliação das pregas cutâneas, da circunferência de diversos segmentos corporais e a razão cintura quadril, são indicadores simples e úteis para a avaliação do acúmulo de tecido adiposo abdominal. Porém, estes índices nem sempre são precisos. A utilização da TC, como método de mensuração da distribuição do tecido adiposo, permite a adequada diferenciação entre os compartimentos de tecido adiposo subcutâneo e visceral, o que não é possível com as técnicas antropométricas convencionais. No presente estudo, verificamos que a avaliação do tecido adiposo visceral pela TC é mais precisa que a medida anatômica. Pois, permitiu distinguir a distribuição do tecido adiposo na cavidade abdominal, em função do tipo de óleo vegetal utilizado, soja ou canola, após tratamento experimental de ratos desnutridos durante a lactação. Assim, constatamos que, tal como em humanos, a TC tem maior sensibilidade para detecção de diferenças sutis na massa de tecido adiposo visceral.

Diversos estudos relataram que as concentrações plasmáticas de leptina apresentam relação direta com os depósitos corporais de tecido adiposo (Wang e cols, 2005, Orr & Davy, 2005, Park e cols, 2004, Reidy & Weber, 2000). Os grupos RA 19% parecem não manter essa relação, já que apresentaram menores percentuais de gordura corporal e visceral, apesar das concentrações plasmáticas de leptina serem semelhantes aos encontrados nos grupos C7% e RA7%. Nossos achados corroboram os de Teixeira e cols (2002) que verificaram a dissociação da concentração plasmática de leptina ao desmame e na idade adulta. Nos ratos submetidos à restrição alimentar ou protéica na lactação, foram encontradas concentrações plasmáticas de leptina elevadas, apesar da baixa massa ponderal dos animais e, quando adultos os animais, cujas mães sofreram desnutrição protéica, eram menores, enquanto aqueles cujas mães sofreram desnutrição calórica eram maiores, e as concentrações séricas de leptina eram as mesmas (Teixeira e cols., 2002). A mesma dissociação foi relatada por Peyron-Caso e cols (2002), que após alimentarem ratos com dieta purificada contendo 14% de lipídios, na forma de óleo de peixe, verificaram uma elevação das concentrações plasmáticas de leptina, acompanhada de uma redução na massa de tecido adiposo epididimal e retroperitoneal. Moraes e cols (2003), relataram que a ração hiperlipídica não afeta a expressão do receptor de leptina Ob-Rb, no tecido adiposo, mas reduz a expressão do Ob-Ra; ambos, podem suprimir, de forma autócrina, a expressão do gene da leptina. A redução de Ob-Ra poderia diminuir a degradação da leptina e conseqüentemente, contribuir para o aumento de suas concentrações plasmáticas.

Em relação ao desenvolvimento do sistema nervoso central em ratos, este ocorre, em parte, durante as últimas semanas de gestação, continuando nos primeiros dias de vida, até o desmame, sendo o hipotálamo muito sensível a fatores maternos, metabólicos e nutricionais (Beck e cols, 2006, Cambraia e cols, 2001). Pinto et al (1999) e Stepan &

Swick (1999), estudando o desenvolvimento cerebral, verificaram que a administração de leptina a ratos desmamados proporcionou um aumento significativo do número de células e da massa do cérebro. No entanto, este desenvolvimento ocorreu na presença de reduzida ingestão alimentar e baixa massa ponderal. Em uma variedade de estudos com modelos animais de desnutrição precoce, tem sido demonstrado o fenômeno de *brain sparing* (“Preservação cerebral”), em que o sistema nervoso central sofre substancialmente menos do que o restante do organismo (Fernandez e cols, 1997). Isso pode ser o resultado de um aumento do fluxo sanguíneo para o cérebro, como mecanismo de proteção em momentos de inanição ou restrição alimentar (Desai e cols, 2005b). No presente estudo, tal como verificado por Fernandez e cols (1997), os animais alimentados com ração hiperlipídica, não apresentam recuperação ponderal. Porém, verifica-se uma maior massa relativa do cérebro, quando esses animais são comparados aos demais grupos. No grupo RAc19%, o fenômeno de *brain sparing* foi mais evidente, visto que esses apresentaram a maior massa relativa do cérebro.

Quanto às concentrações plasmáticas de hormônios tireóideos, o grupo RA que consumiu a ração hiperlipídica contendo óleo de soja (RAs19%) apresentou uma redução na concentração plasmática de  $T_4$ , somente quando comparado ao grupo RA7%. Em relação ao  $T_3$ , os grupos RA apresentaram concentrações plasmáticas semelhantes ao do grupo C7%. Nosso grupo já demonstrou que a desnutrição protéica na lactação está associada com disfunção tireóidea de ratos na vida adulta (Ramos e cols, 2000; Passos e cols, 2002; Ramos e cols, 1997). Verificou-se maior captação de iodo pela tireóide, e maior concentração sérica de  $T_3$  e  $T_4$ , aos 180 dias de idade, caracterizando um estado de hipertireoidismo, o que justifica a baixa massa ponderal destes animais. Em relação à ração hiperlipídica, quando ratos adultos (com 90 dias de idade) foram alimentados com esta

dieta, não ocorreu qualquer alteração nas concentrações plasmáticas de  $T_3$  (Zimmermann-Belsing e cols, 2003; Iossa e cols, 2003). No entanto, quando oferecida pós desmame, verificou-se uma elevação da concentração plasmática do referido hormônio, associada a um aumento da atividade hepática de alfa-GPDH, uma enzima regulada pelo  $T_3$ . Este resultado sugere uma resposta adaptativa do  $T_3$ , que ocorre em ratos jovens alimentados com ração hiperlipídica (Iossa e cols, 2003). Em relação aos efeitos da ração hiperlipídica, e do tipo de óleo vegetal nas concentrações plasmáticas de hormônios tireóideos, em animais desnutridos na lactação, não encontramos qualquer relato na literatura. A diminuição de  $T_4$  sem alteração significativa de  $T_3$  pode ser devido a uma menor produção tireóidea, acompanhada da maior conversão de  $T_4$  a  $T_3$ , o que mantém os níveis inalterados de  $T_3$ . Ou ainda, é possível que o óleo de soja estimule a desidiação inativa de  $T_4$  a  $rT_3$ .

Portanto, evidenciamos que os hormônios tireoideanos não foram os responsáveis pelo estado hipermetabólico dos animais. Esses resultados corroboram com os dados de Duplomb e cols (2004) e Wang e cols (2005), que verificaram uma ação autócrina da leptina, estimulando a lipólise no tecido adiposo, independente da via tireoideana.

#### **4.2.d. Parâmetros bioquímicos**

Estudo realizado por Axen e cols (2003), com ratos alimentados, após o desmame, com ração contendo 60% da energia proveniente dos lipídios, mostraram que a glicemia se mantém similar ao do grupo controle ao final de 42 dias de nutrição experimental. Em nosso estudo, os grupos submetidos à restrição alimentar na lactação apresentaram glicemia semelhantes ao do grupo controle, após período de nutrição experimental, independente do tipo e do percentual de óleo vegetal contido na ração. O mesmo resultado foi verificado,

quando a realimentação ocorreu após desnutrição na vida adulta (Dulloo e cols, 1995). Portanto, a dieta hiperlipídica não afeta a glicemia.

Em relação às concentrações séricas de albumina, estudos experimentais demonstraram que a restrição protéica na lactação determina um impacto maior do que a restrição na gestação. Já que, a desnutrição na gestação resulta em concentração normal de albumina, ao nascimento; enquanto a desnutrição na lactação resulta em hipoalbuminemia, no desmame (Ramos e cols, 2000; Latorraca e cols, 1998). Em nosso estudo, todos os animais receberam ração normoproteica, e assim, a concentração sérica de albumina se manteve normal ao final do período de nutrição experimental, diminuindo a possibilidade de carência protéica.

O metabolismo de lipoproteínas é afetado pela desnutrição. Podendo estar normal ou elevada as concentrações séricas de triglicerídios, em contraste com a baixa concentração de colesterol, enquanto que o HDL-colesterol, não sofre alterações, em crianças e em animais desnutridos (Pejic & Lee, 2006; Lichtenstein e cols, 2006; Estadella e cols, 2004; Houssaini e cols, 1999; Maziere e cols, 1998). No presente estudo, todos os grupos de animais apresentaram concentrações séricas semelhantes de triglicerídios, colesterol e HDL-colesterol, ao término do período de nutrição experimental, afastando a hipótese de desordens no metabolismo lipídico devido à recuperação nutricional com ração hiperlipídica.

Pelo apresentado, concluímos que a recuperação nutricional com óleo de canola, protege o animal de ganho de massa adiposa excessiva, especialmente do tecido adiposo visceral, e que o melhor método para se quantificar estas diferenças, parece ser a tomografia computadorizada.

## **5. CONCLUSÃO**

A área abdominal de tecido adiposo total e visceral avaliada por Tomografia Computadorizada, é diferente de acordo com o óleo vegetal utilizado na ração hiperlipídica.

O *brain sparing* é maior no grupo de animais que foram tratados com ração hiperlipídica contendo óleo de canola.

A dieta hiperlipídica não causou alterações bioquímicas após tratamento experimental.

A restrição alimentar na lactação comprometeu a recuperação nutricional quando os animais foram tratados com ração hiperlipídica, contendo óleo de soja ou de canola.

## **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Adam, C.L.; Mercer, J.G. Appetite regulation and seasonality: implications for obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63:413–419, 2004.

Ahima, R.S.; Flier, J.S. Leptin. *Annual Review of Physiology*, 62:413-437, 2000.

Alippi, R.M.; Metaa, M.D.; Olivera, M.I.; Bozzini, C.; Schneider, P.; Metaa, I.F., Bozzini, C.E. Effect of protein-energy malnutrition in early life on the dimensions and bone quality of the adult rat mandible. *Archives of Oral Biology*, 47: 47–53, 2002.

Anjana, M.; Sandeep, S.; Deepa, R.; Vimalaswaran, K.S.; Farooq, S.; Mohan, V. Visceral and central abdominal fat and anthropometry in relation to diabetes in Asian Indians. *Diabetes Care*, 27:2948-2953, 2004.

Ashworth, A. Treatment of severe malnutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 32:516-518, 2001.

Axen, K.V.; Dikeakos, A.; Sclafani, A. High dietary fat promotes syndrome X in nonobese rats. *Journal of Nutrition*, 133:2244-2249, 2003.

Badaloo, A.; Boyne, M.; Reid, M.; Persaud, C.; Forrester, T., Millward, D.J.; Jackson, A.A. Dietary protein, growth and urea kinetics in severely malnourished children and during recovery. *Journal of Nutrition*, 129:969-979, 1999.

Balaban, G.; Silva, G.A.P. Efeito protetor do aleitamento materno contra a obesidade infantil. *Jornal de Pediatria*, 16(9):80-87, 2004.

Beck, B.; Kozak, R.; Moar, K.M.; Mercer, J.G. Hypothalamic orexigenic peptides are overexpressed in young Long–Evans rats after early life exposure to fat-rich diets. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 342:452–458, 2006.

Bellinger, L.; Lilley, C.; Langley-Evans, S.C. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *British Journal of Nutrition*, 92:513–520, 2004.

Bhan, M.K.; Bhandari, N.; Bahl, R. Management of the severely malnourished child: Perspective from developing countries. *BMJ*, 326:146-151, 2003.

Bhandari, N.; Bahl, R.; Nayyar, B.; Khokhar, P.; Rohde, J.E.; Bhan, M.K. Food supplementation with encouragement to feed it to infants from 4 to 12 months of age has a small impact on weight gain. *Journal of Nutrition*, 131:1946-1951, 2001.

Bieswal, F.; Hay, S.M.; McKinnon, C.; Reusens, B.; Cuignet, M.; Rees, W.D.; Remacle, C. Prenatal protein restriction does not affect the proliferation and differentiation of rat preadipocytes. *Journal of Nutrition*, 134:1493-1499, 2004.

Bolte, M.R.; Hess, B.W.; Means, W.J.; Mon, G.E.; Rule, D.C. Feeding lambs high-oleate or high-linoleate safflower seeds differentially influences carcass fatty acid composition. *Journal of Animal Science*, 80(3):609-616, 2002.

Boozer, C.N.; Schoenbach, G.; Atkinson, R.L. Dietary fat and adiposity: a dose-response relationship in adult male rats fed isocalorically. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 268 (Endocrinology and Metabolism, 31):546-550, 1995.

Boza, J.J.; Moënnos, D.; Vuichoud, J.; Jarret, A.R.; Gaudard-de-Weck, D.; Fritsché, R.; Donnet, A.; Schiffrin, E.J.; Perruisseau, G.; Ballèvre, O. Food deprivation and refeeding influence growth, nutrient retention and functional recovery of rats. *Journal of Nutrition*, 129:1340-1346, 1999.

Bowles, L.; Kopelman, P. Leptin: of mice and men? *Journal of Clinical Pathology*, 54:1-3, 2001.

Büyükgebiz, B.; Öztürk, Y.; Yılmaz, S.; Arslan, N. Serum leptin concentrations in children with mild protein-energy malnutrition and catch-up growth. *Pediatrics International*, 46:534-538, 2004.

Caballero, B. Global patterns of child health: The role of nutrition. *Annual Nutrition and Metabolism*, 46(1):3-7, 2002.

Cambraia, R.P.B. Vannucchi, H.; Almeida, S.S.; De-Oliveira, L.M. Effects of malnutrition during early lactation on development and feeding behavior under the self-selection paradigm. *Nutrition*, 17:455-461, 2001.

Cettour-Rose, P.; Samec, S.; Russell, A. P.; Summermatter, S.; Mainieri, D.; Carrillo-Theander, C.; Montani, J.P.; Seydoux, J.; Rohner-Jeanrenaud, F.; Dulloo, A.G. Redistribution of glucose from skeletal muscle to adipose tissue during catch-up fat: A link between catch-up growth and later metabolic syndrome. *Diabetes*, 54:751-756, 2005.

Colecraft, E. K.; Marquis, G.S.; Bartolucci, A.A.; Pulley, L.V.; Owusu, W.B.; Maetz, H.M. A longitudinal assessment of the diet and growth of malnourished children participating in nutrition rehabilitation centres in Accra, Ghana. *Public Health Nutrition*, 7(4):487-494, 2003.

Crescenzo, R.; Samec, S.; Antic, V.; Rohner-Jeanrenaud, F.; Seydoux, J.; Montani, J.P.; Dulloo, A.G. A role for suppressed thermogenesis favoring catch-up fat in the pathophysiology of catch-up growth. *Diabetes*, 52:1090–1097, 2003.

Cripps, R.L.; Martin-Gronert, M.S.; Ozanne, S.E. Fetal and perinatal programming of appetite. *Clinical Science*, 109:1-11, 2005.

Curcio, C.; Lopes, A.M.; Ribeiro, M.O.; Francoso, O.A.; Carvalho, S.D.; Lima, F.B.; Bicudo, J.E.; Bianco, A.C. Development of compensatory thermogenesis in response to overfeeding in hypothyroid rats. *Endocrinology*, 140: 3438-3443, 1999.

Desai, M.; Gayle, D.; Babu, J.; Ross, M.G. Programmed obesity in intrauterine growth restricted newborns: modulation by newborn nutrition. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288: 91–96, 2005a.

Desai, M.; Gayle, D.; Babu, J.; Ross, M.G. Permanent reduction in heart and kidney organ growth in offspring of undernourished rat dams. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 193:1224–32, 2005b.

Dorfman, S.E.; Wang, S.; Vega-López, S.; Jauhiainen, M.; Lichtenstein, A.H. Dietary fatty acids and cholesterol differentially modulate HDL cholesterol metabolism in Golden-Syrian hamsters. *Journal of Nutrition*, 135:492-498, 2005.

Ducy, P.; Amling, M.; Takeda, S.; Priemel, M.; Schilling, A.F.; Beil, F.T.; Shen, J.; Vinson, C.; Rueger, J.M.; Karsenty, G. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*, 100:197-207, 2000.

Duffy, P.H.; Lewis, S.M.; Mayhugh, M.A.; McCracken, A.; Thorn, B.T.; Reeves, P.G.; Blakely, S.A.; Casciano, D.A.; Feuers, R.J. Effect of the AIN-93M purified diet and dietary restriction on survival in Sprague-Dawley rats: Implications for chronic studies. *Journal of Nutrition*, 132:101-107, 2002.

Duplomb, L.; Takaishi, K.; Park, B.H.; Visser, T.J.; Unger, R.H. Independence of hyperleptinemia induced fat disappearance from thyroid hormone. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 323:49-51, 2004.

Dutra, S.C.P.; Passos, M.C.F.; Lisboa, P.C.; Cabanelas, A.P.; Santos, R.; Pazos Moura, C.; Moura, E.G. Liver deiodinase activity is increased in adult rats whose mothers were submitted to malnutrition during lactation. *Hormone and Metabolic Research*, 35:268-270, 2003.

Eriksson, J.G.; Forsen, T.J.; Osmond, C.; Barker, D.J. Pathways of infant and childhood growth that lead to type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 26:3006-3010, 2003.

Estadella, D.; Oyama, L.M.; Dâmaso, A. R.; Ribeiro, E.B.; Nascimento, C.M.O.D. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*, 20:218-224, 2004.

Fernandez, S.; Gonzalez, C.; Patterson, A.M. Oil enriched diets and behavioral parameters in rats recovery from early undernutrition. *Physiology & Behavior*, 62(1): 113-119, 1997.

Fishbeck, K.L.; Rasmussen, K.M. Effect of repeated cycles on maternal nutritional status, lactational performance and litter growth in ad libitum-fed and chronically food-restricted rats. *Journal of Nutrition*, 117:1967-1975, 1987.

Fruhbeck, G. A heliocentric view of leptin. *Proceedings of Nutrition Society*, 60:301-318, 2001.

Ghibaudi L.; Cook, J.; Farley, C.; Heek, M.V.; Hwa, J.J. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of Sprague-Dawley rats. *Obesity Research*, 10:956-963, 2002.

Ghosh, S.; Shah, D. Nutritional problems in urban slum children. *Indian Pediatrics*, 41:682-696, 2004.

Gopalan, S. Malnutrition: Causes, consequences, and solutions. *Nutrition*, 16(7/8):556-558, 2000.

Greenwood, M.R.C.; Hirsch, J. Postnatal development of adipocytes Cellularity in the normal rat. *Journal of Lipid Research*, 15:474-483, 1974.

Grundy, S.M.; Abate, N.; Chandalia, M. Diet composition and the metabolic syndrome: What is the optimal fat intake? *American Journal of Medicine*, 113(9B):25-29, 2002.

Havel, P.J. Role of adipose tissue in body-weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59:359-371, 2000.

Hill, J.O.; Peters, J.C.; Lin, D.; Yakubu, F.; Greene, H.; Swift, L. Lipid accumulation and body fat distribution is influenced by type of dietary fat in rats. *International Journal of Obesity*, 17:223-236, 1993.

Hirsch, J.; Han, P.W. Cellularity of rat adipose tissue: Effects of growth, starvation, and obesity. *Journal of Lipid Research*, 10:77-82, 1969.

Hoffman, D.J.; Sawaya, A.L.; Verreschi, I.; Tucker K.L.; Roberts, S.B. Why are nutritionally stunted children at increased risk of obesity? Studies of metabolic rate and fat oxidation in shantytown children from São Paulo, Brazil. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72:702-707, 2000.

Holemans, K., Verhaeghe, J., Dequeker, J., Van Assche, F.A. Insulin sensitivity in adult female rats subjected to malnutrition during the perinatal period. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 3:71-77, 1996.

Houssaini, F.Z.; Foulon, T.; Iraqi, M.R.; Payen, N.; Gros Lambert, P. Lipids, lipoproteins, and fatty acids during infantile marasmus in the Fes area of Morocco. *Biomed Pharmacother*, 53(5-6):278-283, 1999.

Idohou-Dossou<sup>1</sup>, N.; Wade<sup>1</sup>, S.; Guiro, A.T.; Sarr<sup>1</sup>, C.S.; Diahama<sup>1</sup>, B.; Cissé, D.; Beau, J.P.; Chappuis, P.; Hoffman, D.; Lemonnier, D. Nutritional status of preschool Senegalese children: long-term effects of early severe malnutrition. *British Journal of Nutrition*, 90: 1123–1132, 2003.

Iossa, S.; Lionetti, L.; Mollica, M.P.; Crescenzo, R.; Botta, M.; Barletta, A.; Liverini, G. Effect of high-fat feeding on metabolic efficiency and mitochondrial oxidative capacity in adult rats. *British Journal of Nutrition*, 90:953–960, 2003.

Jang, I.S.; Hwang, D.Y.; Chae, K.R.; Lee, J.E.; Kim, Y.K.; Kang, T.S.; Hwang, J.H.; Lim, C.H.; Huh, Y.B.; Cho, J.S. Role of dietary fat type in the development of adiposity from dietary obesity-susceptible Sprague-Dawley rats. *British Journal of Nutrition*, 89:429-437, 2003.

Kalderon, B.; Mayorek, N.; Berry, E.; Zevit, N.; Bar-Tana, J. Fatty acid cycling in the fasting rat. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*, 279:221-227, 2000.

Lacerda, E.M.A.; Faria, I.G. Desnutrição energético-protéica na infância. *In: Accioly, E.; Saunders, C.; Lacerda, E.M.A. Nutrição em obstetrícia e pediatria*. 1 nd ed. Rio de Janeiro, RJ: Cultura Médica, 2002; 444.

Langley-Evans, S.C.; Bellinger, L.; McMullen, S. Animal models of programming: early life influences on appetite and feeding behavior. *Maternal and Child Nutrition*, 1:142-148, 2005.

Latorraca, M.Q.; Carneiro, E.M.; Antonio C. Boschero, A.C.; Mello, M.A.R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. *British Journal of Nutrition*, 80:291–297, 1998.

Leshner, A.I.; Litwin, V.A.; Squibb, R.L. A simple method for carcass analysis. *Analytic Biochem*, 9:281-282, 1972.

Levy-Costa, R.B.; Sichieri, R.; Pontes, N.S.; Monteiro, C.A. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: Distribuição e evolução (1974-2003). *Revista de Saúde Pública*, 39(4):530-540, 2005.

Lichtenstein, A.H.; Appel, L.J.; Branos, M.; Carnethon, M.; Daniels, S.; Franch, M.A.; Franklin, B.; Kris-Etherton, P.; Harris, W.S.; Howard, B.; Karanja, N.; Lefevre, M.; Rudel, L.; Sacks, F.; VanHorn, L.; Winston, M.; Wylie-Rosett, J. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114:82-96, 2006.

Lindqvist, A.; Cour, C. D.; Stegmark, A.; Hakanson, R.; Erlanson-Albertsson, C. Overeating of palatable food is associated with blunted leptin and ghrelin responses. *Regulatory Peptides*, 130:123-132, 2005.

Lucas, A. Programming by early nutrition: an experimental approach. *Journal of Nutrition*, 128:401-406, 1998.

Mazière, C.; Dantin, F.; Conte, M.A.; Degonville, J.; Ali, D.; Dubois, F.; Mazière, J.C. Polyunsaturated fatty acid enrichment enhances endothelial cell-induced low-density-lipoprotein peroxidation. *Biochemical Journal*, 336:57-62, 1998.

McDonald, B.E. Canola oil: Nutritional properties. Canada: Canola Council of Canada, 2005. [www.canola-council.org/pdf/nutritionalprop.pdf](http://www.canola-council.org/pdf/nutritionalprop.pdf) (Acessado dia 8 de Janeiro de 2007).

Miyawaki, T.; Abe, M.; Yahata, K.; Kajiyama, N.; Katsuma, H.; Saito, N. Contribution of visceral fat accumulation to the risk factors for atherosclerosis in nonobese Japanese. *Internal Medicine*, 43:1138-1144, 2004.

Monte, C.M.G. Desnutrição: Um desafio secular à nutrição infantil. *Jornal de Pediatria*, 76:285-297, 2000.

Monteiro, C. A. A dimensão da pobreza, da fome e da desnutrição no Brasil. *Estudos Avançados*, 17(48):7-20, 2003.

Monteiro, F.M.F.; Lahlou, S.; Albuquerque, J.A.; Cabral, A.M.S. Influence of a multideficient diet from northeastern Brazil on resting blood pressure and baroreflex sensitivity in conscious, freely moving rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34(2):271-280, 2001.

Moraes, R. C.; Blondet, A.; Birkenkamp-Demtroeder, K.; Tirard, J.; Orntoft, T.F.; Gertler, A.; Durand, P.; Naville, D.; Bégeot, M.. Study of the alteration of gene expression in adipose tissue of diet-induced obese mice by microarray and reverse Transcription-Polymerase Chain reaction analyses. *Endocrinology*, 144:4773-4782, 2003.

Moura, A.S.; Franco de Sá, C.C.N.; Cruz, H.G.; Costa, C.L. Malnutrition during lactation as a metabolic imprinting factor inducing the feeding pattern of offspring rats when adults. The role of insulin and leptin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 35(5):617-622, 2002.

Moura, E.G.; Lisboa, P.C.; Custodio, C.M.; Nunes, M.T.; Souza, K.P.; Passos, M.C.F. Malnutrition during lactation changes growth hormone mRNA expression in offspring at weaning and in adulthood. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18:134-139, 2007.

Müller, O.; Krawinkel, M. Malnutrition and health in developing countries. *Canadian Medical Association Journal*, 173(3):279-286, 2005.

Nell, J.V. Diabetes Mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by progress. *American Journal of Human Genetics*, 14:353-362, 1962.

Niswender, K.D.; Baskin, D.G.; Schwartz, M.W. Insulin and its evolving partnership with leptin in the hypothalamic control of energy homeostasis. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism*, 15(8):362-369, 2004.

Noakes, M.; Clifton, P.M. Oil blends containing partially hydrogenated or interesterified fats: differential effects on plasma lipids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68:242-247, 1998.

Nwagwu, M.O.; Cook, A.; Langley-Evans, S.C. Evidence of progressive deterioration of renal function in rats exposed to a maternal low-protein diet in utero. *British Journal of Nutrition*, 83:79-85, 2000.

Oppenheimer, J.H.; Schwartz, H.L.; Lane, J.T.; Thompson, M.P. Functional relationship of thyroid hormone-induced lipogenesis, lipolysis, and thermogenesis in the rat. *Journal of Clinical Investigation*, 87:125-132, 1991.

Orr, J.; Davy, B. Dietary influences on peripheral hormones regulating energy intake: Potential applications for weight management. *Journal of the American Dietetic Association*, 105:1115-1124, 2005.

Ozanne, S.E.; Lewis, R.; Jennings, B.J.; Hales, C.N. Early programming of weight gain in mice prevents the induction of obesity by a highly palatable diet. *Clinical Science*, 106:141-145, 2004.

Park, K.G.; Park, K.S.; Kim, M.J.; Kim, H.S.; Suh, Y.S.; Ahn, J.D.; Park, K.K.; Chang, Y.C.; Lee, I.K. Relationship between serum adiponectin and leptin concentrations and body fat distribution. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 63:135-142, 2004.

Passos, M.C.F.; Ramos, C.F.; Dutra, S.C.P.; Mouço, T.; Moura, E.G. Long-term effects of malnutrition during lactation on the thyroid function of offspring. *Hormone and Metabolic Research*, 34:40-43, 2002.

Passos, M.C.F.; Ramos, C.F.; Teixeira, C.V.; Moura, E.G. Comportamento alimentar de ratos adultos submetidos à restrição protéica cujas mães sofreram desnutrição durante a lactação. *Revista de Nutrição, Campinas*, 14:7-11, 2001.

Pejic, R.N.; Lee, D.T. Hypertriglyceridemia. *The journal of the American Board of Family Medicine*, 19:310-316, 2006.

Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: Primeiros resultados: Brasil e grandes regiões/IBGE, Coordenação de Índices de Preços, Rio de Janeiro: IBGE, 2004.

Peyron-Caso, E.; Taverna, M.; Guerre-Millo, M.; Véronèse, A.; Pacher, N.; Slama, G.; Rizkalla, S.W. Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids up-regulate plasma leptin in insulin-resistant rats. *Journal of Nutrition*, 132:2235-2240, 2002.

Pinto, S.; Roseberry, A.G.; Liu, H.; Diano, S.; Shanabrough, M.; Cai, X.; Friedman, J.M.; Horvath, L.T. Rapid rewiring of arcuate nucleus feeding circuits by leptin. *Science*, 304:110-115, 2004.

Przybylski, R. Physical and chemical properties. Canada: Canola Council of Canada. [www.canola-council.org/chemical1-6/chemical1-6\\_1.html](http://www.canola-council.org/chemical1-6/chemical1-6_1.html) (Acessado dia 8 de Janeiro de 2007).

Ramos, C.F.; Lima, A.P.S.; Teixeira, C.V.; Brito, P.D.; Moura, E.G. Thyroid function in post-weaning rats whose dams were fed a low-protein diet during suckling. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30(1):133-137, 1997.

Ramos, C.F.; Teixeira, C.V.; Passos, M.C.F.; Pazos-Moura, C.C.; Lisboa, P.C.; Curty, F.H.; Moura, E.G. Low-protein diet changes thyroid function in lactating rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, Baltimore, 224:256-263, 2000.

Ravelli, G.; Stein, Z.; Susser, M.W. Obesity in young men after famine exposure in utero and in early infancy. *New England Journal of Medicine*, 295:349-353, 1976.

Redonnet, A.; Groubet, R.; Noël-Suberville, C.; Bonilla, S.; Martinez, A.; Higuieret, P. Exposure to an obesity-inducing diet early affects the pattern of expression of peroxisome proliferator, retinoic acid, and triiodothyronine nuclear receptors in the rat. *Metabolism*, 50:1161-1167, 2001.

Reeves, P.G. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *Journal of Nutrition*, 127:838-841, 1997.

Reidy, S.P.; Weber, J.M. Leptin: An essential regulator of lipid metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 125:285-297, 2000.

Riccardi, G.; Giacob, R.; Rivellese, A.A. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clinical Nutrition*, 23:447-456, 2004.

Roberts, S.B.; Cole, T.J.; Coward, W.A. Lactational performance in relation to energy intake in the baboon. *American Journal of Clinical Nutrition*, 41:1270-1276, 1985.

Ros, E. Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(s):617-625, 2003.

Ross, R.; Léger L.; Guardo, R.; Guise, J.D.; Pike, B.G. Adipose tissue volume measured by magnetic resonance imaging and computerized tomography in rats. *Journal of Applied Physiology*, 70(5):2164-2172, 1991.

Sawaya, A.L.; Grillo, L.P.; Verreschi, I.; Silva, A.C. Mild stunting is associated with higher susceptibility to the effects of high fat diets: studies in a shantytown population in São Paulo, Brazil. *Journal of Nutrition*, 128:415-420, 1998.

Shillabeer, G.; Lau, D.C.W. Regulation of new fat cell formation in rats: the role of dietary fats. *Journal of Lipid Research*, 35: 592-600, 1994.

Smith, R.D.; Kelly, C.N.M.; Fielding, B.A.; Hauton, D.; Silva, K.D.R.R.; Nydahl, M.C.; Miller, G.J.; Williams, C.M.. Long-term monounsaturated fatty acid diets reduce platelet aggregation in healthy young subjects. *British Journal of Nutrition*, 90:597-606, 2003.

Soriguer, F.; Moreno, F.; Rojo-Martínez, G.; García-Fuentes, E.; Tinahones, F.; Gómez-Zumaquero, J.M.; Cuesta-Munoz, A.L.; Cardona, F.; Morcillo, S. Monounsaturated n-9 fatty acids and adipocyte lipolysis in rats. *British Journal of Nutrition*, 90:1015-1022, 2003a.

Soriguer, F.; Moreno, F.; Rojo-Martínez, G.; Cardona, F.; Tinahones, F.; Gómez-Zumaquero, J.M.; García-Fuentes, E.; Morcillo, S. Redistribution of abdominal fat after a period of food restriction in rats is related to the type of dietary fat. *British Journal of Nutrition*, 89:115-122, 2003b.

Souza, F.; Marchesini, J.B.; Campos, A.C.L.; Malafaia, O.; Monteiro, O.G.; Ribeiro, F.B.; Alves, H.F.P.; Siroti, F.J.; Merster, H.; Mathias, P.C.F. Effect of vagotomy in rats neonatally injected with monosodium glutamate: biometry study. *Acta Cirurgica Brasileira*, 16(1):32-45, 2001.

Steppan, C.M.; Swick, A.G. A role for leptin in brain development. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 256(3):600-602, 1999.

Teixeira, C.V.; Passos, M.C.F.; Ramos, C.F.; Dutra, S.C.P.; Moura, E.G. Leptin serum concentration, food intake and body weight in rats whose mothers were exposed to malnutrition during lactation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:493-498, 2002.

Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation*, 106:3143-3421, 2002.

Tonkiss, J.; Trzcinska, M.; Galler, J.R.; Ruiz-Opazo, N.; Herrera, V.L.M. Prenatal malnutrition-induced changes in blood pressure. Dissociation of stress and nonstress responses using radiotelemetry. *Hypertension*, 32:18-114, 1998.

Tulipano, G.; Vergoni, A.V.; Soldi, D.; Muller E.E.; Cocchi, D. Characterization of the resistance to the anorectic and endocrine effects of leptin in obesity-prone and obesity-resistant rats fed a high-fat diet. *Journal of Endocrinology*, 183:289-298, 2004.

Uauy, R.; Kain, J. The epidemiological transition: Need to incorporate obesity prevention into nutrition programmes. *Public Health Nutrition*, 5(1):223-229, 2002.

Venâncio, S.I. e Monteiro, C.A. A tendência da prática da amamentação no Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 1(1): 40-49 1998.

Vicente, L.L.; Moura, E.G.; Lisboa, P.C.; Costa, A.M.A.; Amadeu, T.; Mandarim-de-Lacerda, C.A.; Passos, M.C.F. Malnutrition during lactation in rats is associated with higher expression of leptin receptor in the pituitary of adult offspring. *Nutrition*, 20: 924-928, 2004.

Wang, M.Y.; Orci, L.; Ravazzola, M.; Unger, R.H. Fat storage in adipocytes requires inactivation of leptin's paracrine activity: Implications for treatment of human obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50):18011-18016, 2005.

Waterland, R.A.; Garza, C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69:179-197, 1999.

Woodall, S.M.; Johnston, B.M.; Breier, B.H.; Gluckman, P.D. Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delayed postnatal growth and elevated blood pressure of offspring. *Pediatric Research*, 40:438-443, 1996.

World Health Organization. Nutrition for health and development. Turning the tide of malnutrition. Responding to the challenge of the 21 century. Geneva, World Health Organization, 2000 (Document WHO/NHD/00.7). Available from: [http://www.who.int/nut/documents/nhd\\_brochure.pdf](http://www.who.int/nut/documents/nhd_brochure.pdf).

Widdowson, E.M.; McCance, R.A. The effect of finite periods of undernutrition at different ages on the composition and subsequent development of the rat. *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences*, 158:329-342, 1963.

Wu, G.; Bazer, F.W.; Cudd, A.; Meininger, C.J.; Spencer, T.E. Maternal nutrition and fetal development. *Journal of Nutrition*, 134:2169-2172, 2004.

Yamasaki, M.; Ikeda, A.; Oji, M.; Tanaka, Y.; Hirao, A.; Kasai, M.; Iwata, T.; Tachibana, H.; Yamada, K. Modulation of body fat and serum leptin levels by dietary conjugated linoleic acid in Sprague-Dawley rats fed various fat-level diets. *Nutrition*, 19:30-35, 2003.

Yoshizumi, T., Nakamura, T., Yamane, M.; Islam, A.H.M.W.; Menju, M.; Yamasaki, K.; Arai, T.; Kotani, K.; Funahashi, T.; Yamashita, S.; Matsuzawa, Y. Abdominal fat: Standardized technique for measurement at CT. *Radiology*, 211:283-286, 1999.

Yucel, A.; Degirmenci, B.; Acar, M.; Albayrak, R.; Haktanir, A. The effect of fasting month of Ramadan on the abdominal fat distribution: Assessment by Computed Tomography. *Tohoku J. Exp. Med*, 204:179-187, 2004.

Zecchin, H.G.; Carvalheira, J.B.C.; Saad, M.J.A. Mecanismos moleculares de resistência à insulina na síndrome metabólica. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*, 4:574-589, 2004.

Zimmermann-Belsing, T.; Brabant, G.; Holst, J.J.; Feldt-Rasmussen, U. Circulating leptin and thyroid dysfunction. *European Journal Endocrinology*, 149:257-271, 2003.

**7. ANEXOS**

## Anexo 7.1: Composição do Mix Mineral segundo AIN-93G.

Mineral	Quantidade (gramas/Kg)
1-Calcium Carbonate, Vetec®	357
2-Potassium Phosphate, monobasic, Vetec®	196
3-Potassium Citrate, Isofar®	70,78
4-Sodium Chloride, Isofar®	74
5-Potassium Sulfate, Sigma®	46,60
6-Magnesium Oxide, B'Herzog®	24
7-Ferric Citrate, Sigma®	6,06
8-Zinc Carbonate, Aldrich®	1,65
9-Manganous Carbonate, Aldrich®	0,63
10-Cupric Carbonate, Aldrich®	0,3
11-Potassium Iodate, Sigma®	0,01
12-Sodium Selenate, Sigma®	0,01025
13-Ammonium Paramolybdate, Sigma®	0,00795
14-Sodium Metasilicate, Sigma®	1,45
15-Chromium Potassium Sulfate, Sigma®	0,275
16-Lithium Chloride, Vetec®	0,0174
17-Boric Acid, Vetec®	0,0815
18-Sodium Fluoride, Sigma®	0,0635
19-Nickel Carbonate, Aldrich®	0,0318
20-Ammonium Vanadate, Aldrich®	0,0066
21-Powdered sucrose	221,026

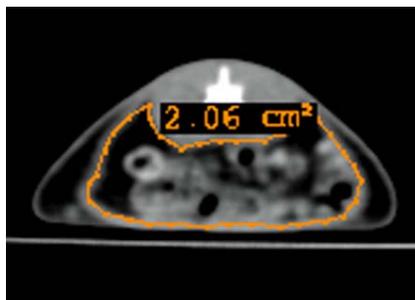
Referência: Reeves. Journal of Nutrition. 127: 838S-841S, 1997

## Anexo 7.2: Composição do Mix Vitamínico segundo AIN-93.

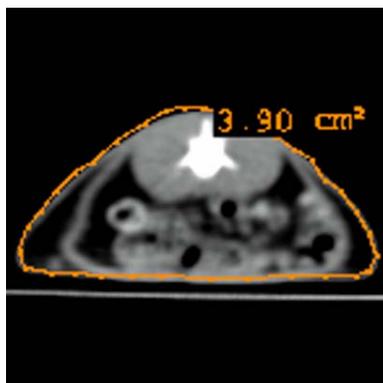
Vitamina	Quantidade (gramas/Kg)
1-Niacin, Sigma®	3,0
2-Calcium Pantothenate, Sigma®	1,6
3-Pyridoxine HCl, Sigma®	0,7
4-Thiamine HCl, Sigma®	0,6
5-Riboflavine, Sigma®	0,6
6-Folic Acid, Sigma®	0,2
7-Biotin, Sigma®	0,02
8-Vitamin E, Bioderm®	15,0
9-Vitamin B-12, Sigma®	2,5
10-Vitamin A, Sigma®	0,8
11-Vitamin D-3, Sigma®	0,25
12-Vitamin K-11, Sigma®	0,075
13-Powdered sucrose	974,655

Referência: Reeves. Journal of Nutrition. 127: 838S-841S, 1997.

Anexo 7.3: TC de seção abdominal de ratos, em decúbito ventral, para mensuração da área visceral de tecido adiposo.



Anexo 7.4: TC de seção abdominal de ratos, em decúbito ventral, para mensuração da área total de tecido adiposo.



## Anexo 7.5: Consumo alimentar (g).

Dias	C7%	RA7%	RAs19%	RAc19%
24.	192.2	87.0	76.5	119.1
27.	271.4	174.2	122.5	151.8
30.	287.0	200.6	147.0	152.1
33.	321.0	223.5	155.0	175.0
36.	443.0	300.5	206.5	216.0
39.	470.5	358.5	254.5	248.0
42.	538.5	418.0	290.5	305.5
45.	587.5	466.5	321.0	339.5
48.	609.5	463.0	344.5	351.5
51.	700.0	471.5	379.5	375.0
54.	704.0	532.0	392.0	361.0
57.	747.0	580.5	426.5	435.5

Anexo 7.6: Evolução Massa ponderal (g).

Dias	C7%			RE7%			REs19%			REc19%		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
21.	36.63	1.687	12	20.00	0.786	11	17.45	0.376	10	19.50	0.973	12
24.	50.48	2.063	12	33.41	2.279	11	24.10	0.718	10	25.98	1.684	12
27.	64.96	2.327	12	39.63	2.794	11	32.85	0.899	10	33.68	2.134	12
30.	81.54	2.859	12	52.55	3.597	11	42.75	0.949	10	41.33	2.375	12
33.	97.88	3.196	12	66.68	4.256	11	52.65	1.138	10	49.75	2.770	12
36.	116.90	3.777	12	83.77	4.928	11	64.75	1.687	10	59.00	3.592	12
39.	137.90	4.531	12	102.30	5.893	11	79.95	2.304	10	72.83	4.462	12
42.	161.10	5.324	12	122.90	6.704	11	96.00	2.892	10	86.63	4.621	12
45.	181.00	5.745	12	141.70	7.395	11	112.10	3.539	10	102.00	5.340	12
48.	198.00	6.374	12	159.80	8.083	11	128.70	3.958	10	116.90	5.874	12
51.	219.40	6.859	12	178.30	8.431	11	147.90	4.465	10	133.00	6.883	12
54.	242.30	7.690	12	198.90	9.018	11	167.10	4.744	10	148.70	6.745	12
57.	264.50	8.421	12	220.70	10.130	11	189.90	5.046	10	164.50	6.822	12

Anexo 7.7: Evolução Comprimento corporal (cm).

Dias	C7%			RE7%			REs19%			REc19%		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
21.	18.58	0.3005	12	14.91	0.3682	11	14.35	0.1833	10	14.79	0.2083	12
24.	20.83	0.3167	12	16.75	0.5396	11	16.05	0.2409	10	16.50	0.2683	12
27.	23.13	0.3947	12	18.98	0.5303	11	17.75	0.2713	10	18.54	0.3044	12
30.	25.46	0.3613	12	21.50	0.5992	11	19.65	0.2363	10	20.08	0.3417	12
33.	27.50	0.4523	12	23.59	0.4711	11	21.85	0.2242	10	21.88	0.4732	12
36.	29.04	0.4010	12	25.45	0.5242	11	23.85	0.2478	10	23.58	0.4028	12
39.	31.25	0.4827	12	27.50	0.6030	11	25.90	0.3145	10	25.13	0.4180	12
42.	32.46	0.4542	12	29.36	0.6779	11	27.20	0.3432	10	26.63	0.3750	12
45.	33.54	0.5017	12	31.09	0.5082	11	29.20	0.3590	10	28.29	0.4458	12
48.	35.50	0.5607	12	33.00	0.5266	11	30.95	0.3287	10	30.04	0.3665	12
51.	36.92	0.5395	12	34.36	0.4959	11	32.45	0.3833	10	31.54	0.3866	12
54.	38.54	0.5417	12	36.00	0.4908	11	34.25	0.4845	10	32.42	0.3305	12
57.	39.13	0.4088	12	37.18	0.4733	11	35.00	0.3162	10	33.75	0.3046	12

Anexo 7.8: Relação entre Massa e Comprimento corporal (g/cm).

Dias	C7%			RE7%			REs19%			REc19%		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
21.	1.962	0.06555	12	1.337	0.02235	11	1.215	0.01799	10	1.313	0.05027	12
24.	2.416	0.07259	12	1.987	0.10950	11	1.500	0.03014	10	1.565	0.07935	12
27.	2.804	0.07495	12	2.063	0.09373	11	1.848	0.02885	10	1.805	0.08776	12
30.	3.204	0.10680	12	2.416	0.10440	11	2.174	0.03244	10	2.046	0.08601	12
33.	3.564	0.11970	12	2.802	0.13070	11	2.408	0.03165	10	2.261	0.08323	12
36.	4.025	0.12380	12	3.265	0.13150	11	2.712	0.05091	10	2.486	0.11370	12
39.	4.416	0.14610	12	3.708	0.18680	11	3.083	0.05927	10	2.882	0.13780	12
42.	4.969	0.17380	12	4.154	0.13940	11	3.524	0.07252	10	3.239	0.13520	12
45.	5.406	0.18610	12	4.532	0.17230	11	3.835	0.09366	10	3.588	0.14530	12
48.	5.585	0.19350	12	4.815	0.17280	11	4.153	0.09581	10	3.879	0.16120	12
51.	5.947	0.19000	12	5.165	0.17600	11	4.552	0.09945	10	4.202	0.18180	12
54.	6.298	0.22410	12	5.502	0.18370	11	4.873	0.08927	10	4.576	0.17510	12
57.	6.765	0.22130	12	5.913	0.20510	11	5.420	0.11480	10	4.873	0.19460	12

Anexo 7.9: Índice de Lee ( $\text{g}^{1/3}/\text{cm}^*1000$ ).

Dias	C7%			RE7%			REs19%			REc19%		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
21.	178.3	1.440	12	182.3	2.269	11	180.8	15.550	10	181.5	1.737	12
24.	177.2	1.531	12	180.0	5.061	11	180.0	17.060	10	178.7	2.093	12
27.	173.8	1.988	12	178.7	10.520	11	180.5	15.320	10	173.4	1.821	12
30.	170.3	2.609	12	173.5	10.060	11	178.0	13.930	10	171.6	1.566	12
33.	167.8	2.988	12	171.0	0.9778	11	171.5	0.8338	10	167.8	1.688	12
36.	168.4	2.373	12	171.2	0.6790	11	168.3	10.000	10	164.4	1.555	12
39.	165.4	2.708	12	169.8	33.500	11	166.3	10.490	10	165.5	1.911	12
42.	167.7	2.795	12	168.9	10.400	11	168.3	11.810	10	165.7	1.622	12
45.	168.8	2.984	12	167.1	10.160	11	165.1	15.300	10	164.7	1.599	12
48.	164.3	2.918	12	163.9	0.4976	11	163.0	10.680	10	162.3	1.674	12
51.	163.5	2.577	12	163.3	0.6223	11	162.9	11.200	10	161.3	1.755	12
54.	161.9	2.914	12	161.7	0.8729	11	160.8	12.890	10	163.0	1.558	12
57.	164.0	2.270	12	162.1	0.8768	11	164.1	11.060	10	162.1	2.167	12



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)