

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



**Dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos *trans* na lactação altera a fisiologia materna e programa a composição corporal, a trigliceridemia e o perfil hormonal de ratos adultos**

**Patrícia Dias de Brito**

**Orientador: Profº Dr. Egberto Gaspar de Moura**

**Rio de Janeiro**

**2008**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

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

**Dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos *trans* na lactação altera a fisiologia materna e programa a composição corporal, a trigliceridemia e o perfil hormonal de ratos adultos**

**Patrícia Dias de Brito**

**Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Egberto Gaspar de Moura**

**Tese de doutorado apresentada à Pós-  
graduação em Fisiopatologia Clínica e  
Experimental/PG-FISCLINEX da  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.**

**Rio de Janeiro**

**2008**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Brito, Patrícia Dias de

Dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos trans na lactação altera a fisiologia materna e programa a composição corporal, a trigliceridemia e o perfil hormonal em ratos adultos / Patrícia Dias de Brito – 2008.

xv, 69p.

Orientador: Egberto Gaspar de Moura

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Lactação. 2. Programação. 3. Ácidos graxos *trans*-isoméricos. I. Moura, Egberto Gaspar. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Endócrina do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, sob orientação do Profº Egberto Gaspar de Moura, com apoio financeiro concedido da Capes, CNPq e FAPERJ.

Aos meus pais, que me educaram com amor e dignidade, e me permitiram chegar até aqui

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Egberto Gaspar de Moura, pela paciência, compreensão, dedicação e firme orientação. Minha referência como professor e pesquisador, desde a Iniciação Científica.

À Professora Dra. Patrícia Cristina Lisboa, pela criteriosa revisão deste trabalho, pela presença constante, e por sua firme e delicada maneira de nos ensinar.

À Professora Dra. Magna Cottini da Fonseca Passos, pelo apoio e impecável exemplo profissional.

À Amélia Gomes, pelo carinho, apoio, ajuda, e por partilhar dúvidas e angústias.

Às doutoras Sheila Dutra e Regina Santos pela sincera amizade e apoio, dentro e fora do laboratório.

Às doutoras Fabiane Toste e Simone Alves pela amizade e ajuda nos experimentos.

Aos doutorandos Isabela Bonomo, Aline Fagundes, Elaine Oliveira e Gustavo Casimiro pela amizade, ajuda nos experimentos, e pelas horas descontraídas de trabalho.

Aos demais doutorandos, mestrandos e alunos de Iniciação Científica, pela ajuda nos experimentos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia pela ajuda e convivência harmoniosa.

Àqueles que mais sofreram com minha ausência durante a fase final deste trabalho, André e Igor.

Aos parentes, amigos e colegas de trabalho que conviveram com minha ansiedade durante estes quatro anos.

## LISTA DE TABELAS

		Página
TABELA 1	As isoformas da desidase, sua distribuição tecidual, funções e atividade no hipotireoidismo e hipertireoidismo	7
TABELA 2	Composição das dietas	14
TABELA 3	Resumo dos resultados observados nas ratas lactantes aos 21 dias	35
TABELA 4	Resumo dos resultados observados nos filhotes aos 180 dias	36

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 Atuação da $\alpha$ -GPDm no sistema lançadeira.	8

## LISTA DE GRÁFICOS

	Página
GRÁFICO 1- Ingestão relativa de ração e de calorias, e peso corporal de ratas dos grupos controle e dieta no período de lactação	22
GRÁFICO 2- Conteúdo de TAV e composição corporal de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação	23
GRÁFICO 3- Leptina sérica de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação	24
GRÁFICO 4- Corticosterona sérica e conteúdo adrenal de catecolaminas de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação	24
GRÁFICO 5- Albuminemia, trigliceridemia, colesterol total sérico, HDL-colesterol sérico e LDL-colesterol sérico de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação	25
GRÁFICO 6- Concentrações séricas de TSH, T3 total, T4 total e atividade da GPD-m hepática de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação	26
GRÁFICO 7- Atividade das desidases D1 hepática, D1 tireóidea de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação	27
GRÁFICO 8- Concentrações de triglicerídeos, colesterol total e proteína no leite de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação	28
GRÁFICO 9- Ingestão relativa de ração e peso corporal de filhotes dos grupos controle e dieta durante a lactação e do desmame até os 180 dias	29
GRÁFICO 10- Conteúdo de TAV e composição corporal de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias	30
GRÁFICO 11- Leptina sérica de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias	31
GRÁFICO 12- Corticosterona sérica e conteúdo adrenal de catecolaminas de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias	31
GRÁFICO 13- Albuminemia, trigliceridemia, colesterol total sérico, HDL-	32

colesterol sérico e LDL-colesterol sérico de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias	
GRÁFICO 14- Concentrações séricas de TSH, T3 total, T4 total e atividade da GPD-m hepática de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias	33
GRÁFICO 15- Atividade das desidases D1 hepática, D1 tireóidea e D2 tireóidea de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias	34

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AG	Ácido graxo
<sup>125</sup> I	radioisótopo do iodo
<sup>125</sup> I-rT <sub>3</sub>	triiodotironina reverso marcado com iodo
11-β-HSD-1	11-beta-hidroxisteróide desidrogenase
BSA	soro albumina bovina
CCK	colecistocinina
D1	Desiodase do tipo 1
D2	Desiodase do tipo 2
DEXA	Absorciometria de raios-x de dupla energia
DTT	ditiotreitól
GH	Hormônio do crescimento
GPDm	Glicerofosfato desidrogenase mitocondrial
HDL-c	lipoproteína de alta densidade
HHA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
HT	Hormônios tireóideos
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina -1
IL-6	Interleucina-6
INT	Cloreto de violeta-iodonitrotetrazólio
i.p.	intra peritoneal
KCN	Cianeto de potássio
KOH	Hidróxido de potássio
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Lípase lipoprotéica
N	Valor normal
NaOH	hidróxido de sódio
ns	Diferença não significativa
PAI-1	Inibidor da ativação do plasminogênio
PC	Peso corporal
PMS	Metasulfato de fenacina
PTU	propiltiouracil
RC	Restrição calórica

RIE	Radioimunoensaio
RP	Restrição protéica
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso simpático
SM	Solução de sacarose e cloreto de magnésio
T <sub>3</sub>	triiodotironina
T <sub>4</sub>	tiroxina
TAM	Tecido adiposo marrom
TAV	Tecido adiposo visceral
TCA	ácido tricloroacético
TG	triglicerídeos
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TRH	Fator estimulador de TSH
TTR	Proteína carreadora de tiroxina
TSH	Hormônio tireotrófico hipofisário
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

## ÍNDICE

	Página
Lista de tabelas	vi
Lista de figuras	vii
Lista de gráficos	viii
Lista de abreviaturas	x
Índice	xii
Resumo	xiii
Abstract	xv
1-Introdução	1
1.1-Lactação	2
1.1.1-Nutrição materna e composição bioquímica do leite	3
1.2-Perfil lipídico da dieta	5
1.3-Regulação do peso corporal e do tecido adiposo	6
1.4-Programação metabólica	10
2-Objetivos	13
3-Metodologia	14
3.1-Modelo experimental	14
3.2-Avaliação do estado nutricional	15
3.3-Avaliação da composição corporal	16
3.4-Determinação das concentrações séricas de lipídeos	17
3.5-Determinação das concentrações séricas hormonais	17
3.6-Dosagem de catecolaminas	18
3.7-Quantificação da atividade da enzima GPDm hepática	19
3.8-Determinação da atividade das desidases	19
3.9-Análise da composição bioquímica do leite	20
3.10-Análise estatística	21
4-Resultados	22
4.1-Lactação	22
4.2-Programação	29
5-Discussão	37
6-Conclusões	47
7-Referências Bibliográficas	48

## RESUMO

Com base no conceito de programação metabólica é de suma importância o estudo sobre alterações do balanço energético e dos percentuais de macronutrientes da dieta materna e suas relações com o desempenho lactacional e o desenvolvimento da prole. Assim, pretendemos testar em um modelo animal a hipótese de que uma dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos *trans* na lactação pode programar o peso e composição corporais e os perfis lipídico e hormonal. Ratas Wistar de 3 meses de idade, lactantes, foram divididas em 2 grupos: controle – ração normal (23% de proteína, 66% de carboidrato e 11% de lipídeo) e dieta – ração hiperlipídica rica em ácidos graxos *trans* (15% de proteína, 55% de carboidrato e 30% de lipídeo), permanecendo neste tratamento até o final da lactação. Após o desmame, os filhotes receberam ração normal. Monitoramos peso corporal e ingestão alimentar. A composição bioquímica do leite foi avaliada aos 21 dias da lactação. As ratas lactantes foram sacrificadas aos 21 dias e as proles aos 180 dias de idade. A dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos *trans* produziu alterações importantes na fisiologia materna: menor ingestão alimentar até o desmame (diferença de 30% aos 21 dias;  $p < 0,01$ ) e menor ingestão calórica durante a maior parte da lactação ( $p < 0,001$ ), menor peso corporal (diferença de 11% aos 21 dias;  $p < 0,05$ ), com 51% a mais de gordura corporal ( $p < 0,005$ ) e 71% a mais de tecido adiposo visceral ( $p < 0,005$ ), maior leptina sérica (57%;  $p < 0,05$ ), e maiores triglicérido (47%;  $p < 0,05$ ) e colesterol (16%;  $p < 0,05$ ) séricos, assim como maiores índices aterogênicos de Castelli I (67%;  $p < 0,05$ ) e II (2x;  $p < 0,01$ ). Estas ratas apresentaram menor corticosteronemia (36%;  $p < 0,05$ ) e maior conteúdo adrenal de catecolaminas (39%;  $p < 0,05$ ). Esta dieta também levou a alterações importantes da função tireóidea: maiores concentrações séricas de TSH (100%;  $p < 0,005$ ) e  $T_3$  (27%;  $p < 0,005$ ), maior atividade D1 hepática (100%;  $p < 0,005$ ) e D1 (50%;  $p < 0,005$ ) e D2 (94%;  $p < 0,005$ ) tireóideas, e maior atividade GPDm hepática (50%). O leite destas ratas apresentou menores concentrações de colesterol e triglicéridos (62%;  $p < 0,001$ ; para ambos). Aos 180 dias, as proles das ratas do grupo dieta apresentaram ingestão alimentar e peso corporal normais, entretanto apresentaram maior percentual de gordura corporal (45%;  $p < 0,005$ ), hipertrigliceridemia (20%;  $p < 0,05$ ), hiperleptinemia (100%;  $p < 0,05$ ), hipertiroxinemia (28%;  $p < 0,05$ ), menor corticosteronemia (50%;  $p < 0,05$ ), menor conteúdo adrenal de catecolaminas (56%;  $p < 0,05$ ). A atividade da D1 tireóidea foi maior (130%;  $p < 0,0001$ ), contudo a atividade da D1 hepática foi menor (47%;  $p < 0,0001$ ). Concluimos que a dieta hiperlipídica rica em AG *trans* na lactação, além

de produzir alterações deletérias na mãe, programa para alguns dos componentes da síndrome metabólica na prole adulta e disfunção tireóidea.

## ABSTRACT

Based on the concept of metabolic programming, energetic balance and macronutrients of maternal diet are associated with lactational performance and newborn development. Thus, we intend to show, on an animal model, if during lactation a maternal high-fat diet rich in *trans*-fatty acid can program body composition and lipid and hormonal profile of the offspring. Three months-old Wistar rats were divided into control diet (C) or high-fat high-*trans*-fatty acids diet (D) groups, during lactation. After weaning, all pups received control diet. Body weight and food intake were monitored. Milk composition were analyzed at day 21. At weaning (21 days of lactation), dams were sacrificed, while the offspring were killed when they were 180 days-old. High-fat and high-*trans*-fatty acids diet produced in the mother: lower food intake (30% on day 21;  $p < 0.01$ ) and lower caloric intake ( $p < 0.001$ ), lower body weight (11% on day 21;  $p < 0.05$ ), with higher total body fat (51%;  $p < 0.005$ ), higher visceral adipose tissue (71%;  $p < 0.005$ ), hyperleptinaemia (57%;  $p < 0.05$ ), hypertriglyceridaemia (47%;  $p < 0.05$ ) and hypercholesterolaemia (16%;  $p < 0.05$ ), and higher Castelli index I (67%;  $p < 0.05$ ) and II (2x;  $p < 0.01$ ). These dams also show lower serum corticosterone (36%;  $p < 0.05$ ) and higher adrenal catecholamines content (39%;  $p < 0.05$ ). This diet leads to important changes on the thyroid function with higher serum TSH (100%;  $p < 0.005$ ) and  $T_3$  (27%;  $p < 0.005$ ), higher liver D1 (100%;  $p < 0.005$ ) and thyroid D1 (50%;  $p < 0.005$ ) and D2 (94%;  $p < 0.005$ ) activities, and higher liver GPDm activity (50%). Milk presented lower cholesterol and tryglicerides concentrations (62%;  $p < 0.001$ ; for both). There were no differences on food intake or body weight between adult offspring on day 180, but rats whose mothers were fed a high-fat high-*trans*-fatty acid diet showed higher total body fat (45%;  $p < 0.005$ ), hypertriglyceridaemia (20%;  $p < 0.05$ ), hyperleptinaemia (100%;  $p < 0.05$ ), hypertiroxinaemia (28%;  $p < 0.05$ ), lower serum corticosterone (50%;  $p < 0.05$ ) and catecholamines content (56%;  $p < 0.05$ ). Thyroid D1 activity was higher (130%;  $p < 0.0001$ ), but liver D1 activity was lower (47%;  $p < 0.0001$ ). In conclusion, high-fat high-*trans*-fatty acids diet on lactation, leads to deleterious changes in the dams, and programmes for some parameters of metabolic syndrome and thyroid dysfunction on adulthood.

## 1 - INTRODUÇÃO

Inquéritos alimentares domiciliares realizados no Brasil, ao longo de um período de duas décadas, apontam mudanças significativas na composição da dieta da população urbana, conseqüentes à melhora do padrão socioeconômico (Batista Filho & Rissin, 2003; Bermudez & Tucker, 2003; Rosado & Monteiro, 2001; Mondini & Monteiro, 2000). A tendência brasileira de aumento no consumo de produtos de origem animal e a substituição de carboidratos por lipídeos já foi observada anteriormente em países em desenvolvimento (Popkin, 1993) e países desenvolvidos (Sawaya, 1997; James, 1988). Essas mudanças ocorridas em países desenvolvidos há décadas atrás estiveram associadas ao aumento da ocorrência de doenças crônico-degenerativas (Reynolds & He, 2005).

No Brasil, a evolução de dislipidemias e doenças cardiovasculares, associada à alimentação, vêm sendo chamadas de transição epidemiológica. Este processo já é responsável por um aumento em cerca de 50% nos casos de enfermidades crônicas, particularmente nos grupos de baixo nível socioeconômico (Batista Filho & Rissin, 2003).

O desenvolvimento das doenças crônicas envolve principalmente um componente nutricional, além de componentes genéticos, ambientais e comportamentais; podendo ter início na infância. Já no início da década de 70, Dahl (1972) sugeria que uma alta ingestão de sódio no primeiro ano de vida poderia predispor ao desenvolvimento de hipertensão.

Vários trabalhos experimentais (Fagundes *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2007; Passos *et al.*, 2000; Ramos *et al.*, 1997; Kanarek *et al.*, 1986; Pond *et al.*, 1985; Naismith *et al.*, 1982) mostram os efeitos da restrição alimentar (calórica e/ou protéica) materna no crescimento da prole, indicando que a nutrição na lactação é importante no estabelecimento de padrões normais para o crescimento e desenvolvimento. Porém, existem poucos relatos sobre o excesso dietético ou alterações na composição de macronutrientes na dieta materna na lactação (Buckley *et al.*, 2005; Guo & Jen, 1995).

Estudos clássicos em animais e em seres humanos sugerem que alterações nutricionais nos períodos de gestação e lactação afetam a predisposição a diabetes tipo II, obesidade, hipertensão e doenças cardiovasculares na vida adulta (Barker & Lackland, 2003; Godfrey & Barker, 2001; Godfrey & Barker, 2000; Levin, 2000; Barker, 1998; Martin *et al.*, 1998; Barker, 1995; Goldberg & Prentice, 1994; Barker, 1992; Lucas, 1991; Sawaya *et al.*, 1989; Ravelli *et al.*, 1976). Esses resultados introduziram o conceito de

programação metabólica que se traduz por uma modificação permanente de uma determinada função, conseqüente a uma alteração fisiológica (nutricional, hormonal, psicológica ou ambiental) ocorrida em um período crítico nos primeiros dias de vida (Moura & Passos, 2005; Godfrey & Barker, 2001; Godfrey & Barker, 2000; Levin, 2000; Lucas, 2000; Barker 1998).

Com base nesses dados e no conceito de programação metabólica estabelecido por Lucas (2000), acreditamos ser de suma importância o estudo sobre alterações do balanço energético e dos percentuais de macronutrientes da dieta materna e suas relações com o desempenho lactacional e desenvolvimento da prole.

### **1.1 – LACTAÇÃO**

Durante a lactação, o aumento das necessidades energéticas e a mobilização do tecido adiposo materno ocorrem em resposta a uma complexa seqüência de estímulos bioquímicos e neuroendócrinos, iniciada na concepção e modulada por fatores ambientais (Robinson, 1986).

Teoricamente, a lactação causa perda de peso no período pós-parto, mas na realidade, essa perda ponderal é muito variável, e algumas mulheres até ganham peso na lactação (Lovelady *et al.*, 2000).

Entretanto, com tantas publicações recentes sobre o aumento da prevalência da obesidade e suas potenciais complicações (Bentley-Lewis *et al.*, 2007; Mondini & Monteiro, 2000), não é surpreendente que a maioria das mulheres no período pós-parto, sente-se ansiosa para perder o excesso de peso adquirido na gestação. Uma perda de peso modesta e gradual, de aproximadamente 0,5 kg/mês, em lactantes saudáveis, não altera o volume ou a composição do leite materno (Dusdieker *et al.*, 1994). Lovelady *et al.* (2000) demonstraram que mesmo uma perda de 0,5 kg/semana em lactantes com sobrepeso, a partir da quarta semana pós-parto, não afeta o crescimento do bebê. Mas, em mulheres com pequena reserva adiposa, o controle do balanço energético na lactação pode ser mais crítico (Brown *et al.*, 1986).

Os efeitos de um balanço energético negativo durante a lactação podem ser avaliados através da redução da ingestão ou do aumento do gasto de energia. Pelo fato destes experimentos serem difíceis de conduzir em seres humanos, por razões práticas e éticas, vários modelos experimentais de restrição calórica foram desenvolvidos e mostram as alterações fisiológicas em resposta ao estresse da dieta.

Diversos modelos de restrição alimentar na lactação foram estudados pelo nosso grupo e os principais efeitos destes tratamentos nas ratas lactantes foram: alterações na composição do leite (Passos *et al.*, 2001a,b; Passos *et al.*, 2000), menor peso corporal (Lisboa *et al.*, 2006; Ramos *et al.*, 2000), disfunção tireóidea (Lisboa *et al.*, 2006; Lisboa *et al.*, 2003; Ramos *et al.*, 2000) e outras alterações hormonais (Lisboa *et al.*, 2006).

Estes modelos também mostram o efeito da restrição alimentar materna na lactação sobre crescimento, desenvolvimento e função tireóidea dos filhotes. Proles de ratas submetidas à restrição protéica (RP) ou calórica (RC) na lactação apresentaram menor peso corporal ao desmame (Passos *et al.*, 2000). A RP materna também provocou menor captação tireóidea de radioiodeto pelos filhotes no início da lactação (Passos *et al.*, 2001a). Este processo foi revertido aos 21 dias (Passos *et al.*, 2001a), mas o aumento da captação não foi suficiente para compensar o hipotireoidismo, caracterizado por menor concentração sérica de triiodotironina ( $T_3$ ) ao desmame (Ramos *et al.*, 1997), mesmo com o maior transporte de  $T_3$  pelo leite no grupo desnutrido (Passos *et al.*, 2001b). Esta alteração pode, pelo menos em parte, ser explicada pela desiodação da tiroxina ( $T_4$ ), na glândula mamária, pelas enzimas desiodases do tipo 1 e do tipo 2 (Lisboa *et al.*, 2003). A RP materna também provocou alterações na transferência de radioiodeto pelo leite. Passos *et al.* (2001a) observaram menor secreção de radioiodeto no início da lactação, levando a um mecanismo de adaptação, onde sua maior transferência pelo leite, ao final da lactação, compensaria o aumento da captação tireóidea dos filhotes.

Em modelo de dieta de cafeteria (mistura de alimentos palatáveis, hiperlipídicos e hipercalóricos) na gestação e lactação (Brito *et al.*, 2006), as ratas apresentaram aos 21 dias algumas alterações semelhantes àquelas observadas nas ratas RP: menor peso corporal, menor TSH sérico e maior  $T_3$  sérico.

Os filhotes das ratas RP, que receberam dieta normoprotéica após o desmame, foram posteriormente acompanhados e algumas alterações observadas ao final da lactação persistiram até a idade adulta, sugerindo modificações permanentes da composição corporal e da função tireóidea. Estes resultados serão apresentados adiante, no capítulo de programação.

### **1.1.1 – NUTRIÇÃO MATERNA E COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DO LEITE**

A influência da dieta materna sobre a composição do leite depende, em parte, da história nutricional da mãe, principalmente das reservas acumuladas (Fagen, 2002). Alguns estudos epidemiológicos mostram que o estado nutricional influencia tanto a

quantidade como a qualidade do leite (Villalpando *et al.*, 1998; Hartmann *et al.*, 1995; Brown *et al.*, 1986; Hennart & Vis, 1980; Jelliffe & Jelliffe, 1978; Hanafy *et al.*, 1972), outros, entretanto, não observaram alterações (Prentice *et al.*, 1994; Coward *et al.*, 1984).

A glândula mamária, apesar de ser um dos órgãos com maior percentual de lipídeos depois do tecido adiposo, também é um dos órgãos mais metabolicamente ativos, na gestação e lactação, reforçando o conceito recente da grande importância metabólica e reguladora do tecido adiposo (Lopez-Luna *et al.*, 1991).

A enzima lipase lipoprotéica (LPL) é encontrada no lúmen capilar de muitos tecidos, principalmente no tecido adiposo e na glândula mamária na lactação. Sua função é hidrolisar os triglicerídeos, liberando os ácidos graxos para o metabolismo celular. Na lactação, a ação da LPL encontra-se aumentada na glândula mamária e diminuída no tecido adiposo, permitindo o desvio de lipídeos do tecido adiposo para a síntese de leite (Jensen *et al.*, 1994). Se a atividade desta enzima é regulada pelo estado fisiológico, como o jejum (Jensen *et al.*, 1994), então hormônios tais como prolactina, leptina e insulina, que podem ter sua concentração alterada na desnutrição, devem também participar desta regulação.

A gordura do leite é fonte importante de energia e ácidos graxos essenciais para a prole. A composição de ácidos graxos do leite materno reflete diretamente ambos os padrões de quantidade e saturação de gordura na dieta materna. E mais, a restrição grave do aporte energético resulta na mobilização da gordura corpórea, resultando em um leite cuja composição de ácidos graxos lembra aquela dos depósitos maternos (Fagen, 2002). Já a quantidade de colesterol no leite não parece ser influenciada pela dieta da mãe; entretanto o conteúdo de colesterol no leite é reduzido conforme progride a lactação (Fagen, 2002).

Cunha *et al.* (2005) estudaram a influência do padrão dietético na composição de ácidos graxos do leite de mulheres brasileiras. Foi observada uma mistura dos padrões tradicional e ocidental de alimentação, com alta ingestão de gordura e açúcar, e uma concentração de ácidos graxos no leite semelhante àquela de mulheres de vários países ocidentais, com maior representatividade do ácido graxo saturado.

Warman & Rasmussen (1983) observaram que a RC na gestação e lactação, ou apenas na lactação, aumentou as concentrações de proteína e lipídeo e diminuiu as concentrações de lactose no leite de ratas. Entretanto, Crnic & Chase (1978) não encontraram alterações.

Nosso grupo demonstrou que o leite de ratas submetidas à RP na lactação apresentava menores concentrações de proteína aos 12 e 21 dias. No grupo RC, o leite apresentou maiores teores lipídicos do dia 12 ao final da lactação, e maiores teores protéicos do dia 16 ao final da lactação (Passos et al., 2000).

Ratas lactantes alimentadas com dieta de cafeteria apresentaram maiores concentrações de lipídeos (Rolls *et al.*, 1986; Rolls *et al.*, 1984) e diminuição da concentração de proteínas no leite (Rolls *et al.*, 1986).

O principal efeito da desnutrição materna na lactação é a produção de menores quantidades de leite a cada dia. Isso acontece com a mãe que segue uma rigorosa dieta de redução de peso enquanto está amamentando seu bebê (Fagen, 2002).

## **1.2 – PERFIL LIPÍDICO DA DIETA**

A preocupação com a manipulação da gordura da dieta vem aumentando à medida que estudos epidemiológicos mostram correlação entre aterosclerose e concentrações plasmáticas de lipoproteínas (Hegele, 1996; Thomas & Rudel, 1996; Corti *et al.*, 1995; Dimmitt, 1995; Maher *et al.*, 1995; Sacks, 1995). O excesso de lipídeos na dieta também está associado à resistência insulínica (Lovejoy & DiGirolamo, 1992) e *diabetes mellitus* tipo 2 (Marshall *et al.*, 1994; Vessby *et al.*, 1994).

Estudos epidemiológicos também indicam correlação entre o consumo de lipídeos pela população e a obesidade (Cooling & Blundell, 1998; Proserpi *et al.*, 1997). Entretanto, alguns indivíduos que utilizam dietas ricas em lipídeos, apresentam peso normal ou baixo, sugerindo que, possivelmente, o excesso de lipídeos ingerido possa estar em equilíbrio com a quantidade consumida pelo organismo. Esta proteção pode ser explicada através de mecanismos fisiológicos, como taxa metabólica ou oxidação de lipídeos alterados (Cooling & Blundell, 1998; Proserpi *et al.*, 1997).

Atualmente, vários trabalhos em roedores mostram que mais importante que o percentual de lipídeo total na dieta, passou a ser o tipo de lipídeo consumido. Águila *et al.* (2002) submeteram animais desmamados à suplementação com diferentes tipos de lipídeos dietéticos, e observaram alterações nas concentrações séricas de lipoproteínas na velhice. Os autores relataram que a suplementação com óleo de canola melhora o perfil lipídico e aumenta os níveis séricos de HDL-colesterol (HDL-c).

Ácidos graxos *trans*-isoméricos (AG *trans*), obtidos a partir da peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados e do processo industrial de hidrogenação (Chatgialloglu & Ferreri, 2005), têm sido associados a alguns efeitos deletérios no organismo, como

aumento do LDL-colesterol (LDL-c) e redução da HDL-c (Mensink & Katan, 1990). Trabalhos recentes mostram que ao fornecer AG *trans* na dieta de ratas lactantes, uma alteração do metabolismo lipídico materno é responsável por menor síntese lipídica na glândula mamária (Assumpção *et al.*, 2002) e menor concentração de ácidos graxos essenciais no leite (Assumpção *et al.*, 2004).

A preocupação com a ingestão excessiva de lipídeos deve ser estendida aos períodos de gestação e lactação, pois o desenvolvimento *in utero* é influenciado por alterações nutricionais maternas, programando o metabolismo do feto. Estudos experimentais mostram que a prole de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica na gestação desenvolve alterações metabólicas, como maior proporção de gordura corporal, maior conteúdo lipídico hepático e hiperinsulinemia, ao desmame (Guo & Jen, 1995) e na idade adulta (Bucley *et al.*, 2005).

Existem poucos estudos sobre dieta hiperlipídica e função tireóidea, e estes mostram aumento de T<sub>3</sub> sérico em animais adultos (Leblanc *et al.*, 1982; Rothwell *et al.*, 1982; Tulp *et al.*, 1982). Ratas submetidas à dieta de cafeteria durante a gestação e lactação também apresentaram maior T<sub>3</sub> sérico (Brito *et al.*, 2006). Com relação à função adrenal, Trottier *et al.* (1998) observaram que a dieta hiperlipídica na lactação modifica a resposta do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) dos filhotes. Não encontramos na literatura estudos com dietas ricas em lipídeos, ou em AG *trans*, durante a lactação e seus efeitos sobre a função tireóidea ou sobre a corticosteronemia e conteúdo adrenal de catecolaminas, dos filhotes em longo prazo.

### **1.3 – REGULAÇÃO DO PESO CORPORAL E DO TECIDO ADIPOSEO**

Uma variedade de sistemas reguladores existe para manter o peso corporal em algum ponto predeterminado. Neurotransmissores, tecido adiposo, massa protéica, fatores hormonais e pós-prandiais regulam o consumo alimentar e também o peso corporal. Esta regulação pode ocorrer em curto prazo, controlando o consumo de alimentos de refeição a refeição, e em longo prazo, pela disponibilidade de reserva adiposa (Bray, 1987). O contato mecânico dos alimentos com a mucosa do estômago e com a musculatura do intestino delgado estimula a secreção de peptídeos intestinais, que têm efeito imediato sobre a saciedade, como por exemplo a colecistocinina (CCK), liberada quando as gorduras e as proteínas atingem o intestino delgado (Laquatra, 2002).

Em animais e em seres humanos, os esforços intencionais para superalimentação ou subalimentação são acompanhados por um rápido retorno ao peso corpóreo original, como se este constituísse um ponto de equilíbrio sensível às influências fisiológicas, possivelmente devido aos mecanismos reguladores geneticamente determinados (Rosencrans, 1994).

O sistema regulador envolvendo os neurotransmissores cerebrais controla a atividade alimentar em resposta a sinais periféricos. As catecolaminas, norepinefrina e dopamina, são liberadas pelo sistema nervoso simpático (SNS) em resposta à ingestão, e atuam em áreas do hipotálamo que controlam o comportamento alimentar. Fome e subnutrição reduzem a atividade do SNS e a atividade adreno-medular. As catecolaminas secretadas pela medula adrenal têm importância no processo de catabolismo, aumentando a lipólise, o gasto energético, a glicogenólise hepática e a termogênese (Laquatra, 2002).

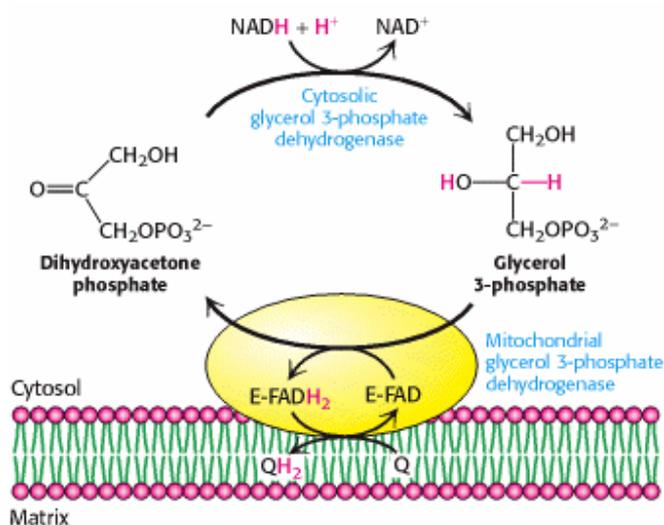
Os hormônios tireóideos (HTs) atuam indiretamente no metabolismo energético modulando a resposta tecidual às catecolaminas, através dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos. Um aumento de  $T_3$  e de  $T_4$  aumenta a expressão destes receptores, aumentando o catabolismo (Laquatra, 2002). O metabolismo periférico extra-tireóideo dos HTs é essencial para sua função intracelular, tendo o fígado papel predominante neste processo. A maior parte do  $T_3$  circulante é originada neste órgão pela ação da enzima 5'-desiodase (D1), que remove átomos de iodo do anel fenólico do  $T_4$ , através de um processo chamado desiodação (Kelly, 2000). Esta enzima, por sua vez, é dependente das concentrações de HT, variando com o hipotireoidismo ou hipertireoidismo, conforme pode ser visto na tabela 1.

**Tabela 1** – As isoformas da desiodase, sua distribuição tecidual, funções e atividade no hipotireoidismo e hipertireoidismo.

	D1	D2
Tecidos	tireóide, fígado, rim	SNC, hipófise, tireóide, TAM músculo esquelético, placenta, glândula mamária lactante,
Função	Mantém o $T_3$ plasmático	geração local e plasmática de $T_3$
Hipotireoidismo	↓	↑
Hipertireoidismo	↑	↓

Outra enzima que também depende de HTs é a alfa-glicerofosfato desidrogenase mitocondrial ( $\alpha$ -GPDm) (Lee & Lardy, 1965), que é encontrada principalmente no fígado, participando da lançadeira de prótons na mitocôndria, regenerando NADPH, sendo essencial no processo de gliconeogênese, transformando o glicerol em dihidroxiacetona fosfato (Brown *et al.*, 2002), conforme mostrado na figura 1. Recentemente, nosso grupo mostrou que a leptina inibe a atividade GPDm hepática em ratos eutireoideos (Oliveira *et al.*, 2007).

**Figura 1** – Atuação da  $\alpha$ -GPDm no sistema lançadeira.



Fonte: BIOCHEMISTRY, 5ª edição, New York, 2002

A leptina, hormônio secretado principalmente pelo tecido adiposo, age através de receptores hipotalâmicos controlando a ingestão alimentar, peso corporal, temperatura corporal e taxa metabólica (Friedman & Halaas, 1998).

Hoje, sabe-se que este hormônio também desempenha importante papel no crescimento e desenvolvimento. O leite materno contém quantidade significativa de leptina (Houseknecht *et al.*, 1997; Bonomo *et al.*, 2005), contribuindo para a manutenção dos níveis séricos do recém-nato. Como a leptinemia da prole pode variar de acordo com a dieta materna (Trottier *et al.*, 1998), a leptina parece ser um elo crítico entre fatores ambientais e maternos e o desenvolvimento fisiológico do recém-nato. Sua ação sobre a liberação de  $T_4$  (Martin *et al.*, 1998) é importante para o desenvolvimento de células adiposas fetais. O  $T_4$  também pode atuar diretamente nos adipócitos maduros, aumentando a secreção de leptina (Martin *et al.*, 1998). Outros hormônios, como  $T_3$

(Yoshida *et al.*, 1997) e insulina (Leroy *et al.*, 1996), aumentam a expressão do RNAM para leptina.

Atualmente, o tecido adiposo pode ser considerado como um tecido metabolicamente ativo e um órgão endócrino dinâmico, secretor de hormônios e fatores inflamatórios. Estes fatores, chamados de adipocitocinas, estão envolvidos em vários processos fisiológicos incluindo balanço energético e apetite, metabolismo lipídico, controle da glicemia, regulação da pressão arterial, hemostasia e angiogênese (Trayhurn, 2005; Rajala & Scherer, 2003; Festa *et al.*, 2001). Os mais importantes incluem, além da leptina, a adiponectina, o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), o inibidor da ativação do plasminogênio-1 (PAI-1), a interleucina-6 (IL-6), a proteína C-reativa, a resistina, a vifastina e o angiotensinogênio (Ahima & Flier, 2000).

A maioria dos depósitos de gordura vem diretamente dos triglicerídeos da dieta, conforme é evidenciado pelo fato de que a composição do tecido adiposo reflete a composição de ácidos graxos da dieta. Excesso de carboidrato e proteína na dieta também são convertidos em ácidos graxos no fígado (Laquatra, 2002).

Alguns autores (Kannel *et al.*, 1991; Ohlson *et al.*, 1985) consideram a gordura corporal acumulada no tronco (gordura andróide), avaliada pela razão cintura-quadril, como o melhor preditor para as co-morbidades da síndrome metabólica. Contudo, outros autores preferem utilizar apenas a quantidade de tecido adiposo visceral (TAV), estimado por tomografia computadorizada ou ressonância magnética (Montague & O`Rahilly, 2000). Os mecanismos moleculares que explicam este acúmulo de tecido adiposo permanecem desconhecidos (Montague & O`Rahilly, 2000). Uma causa já identificada de obesidade visceral e de complicações metabólicas é a exposição a níveis elevados de glicocorticoide (Björntrop & Rosmond, 2000), pois este hormônio regula a diferenciação, função e distribuição do tecido adiposo (Montague & O`Rahilly, 2000).

Todavia, a maioria dos indivíduos com obesidade apresenta níveis séricos normais de cortisol, evidenciando que o metabolismo intracelular deste hormônio também tem papel no acúmulo de gordura. A enzima 11- $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase isoforma 1 (11- $\beta$ -HSD-1) determina a concentração intracelular deste hormônio, regenerando o glicocorticoide inativo e amplificando a ativação dos seus receptores intracelulares (Walker & Stewart, 2003; Seckl & Walker, 2001).

O mais importante local de expressão da isoforma 11- $\beta$ -HSD-1 é o tecido adiposo, principalmente o TAV (Walker & Stewart, 2003), onde a expressão de receptores para glicocorticóides também acontece ativamente (Morton *et al.*, 2004). Sabe-se também que

a concentração local de hormônio ativado pela enzima promove a ativação dos receptores de glicocorticóides. Outros locais importantes de expressão desta enzima são: fígado e cérebro (Walker & Stewart, 2003). Entretanto, a expressão da enzima não é regulada apenas pelos níveis de glicocorticóides, mas também por HT, esteróides sexuais, hormônio do crescimento (GH), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), insulina e citocinas (Seckl & Walker, 2001).

Aumento de expressão e atividade da 11- $\beta$ -HSD-1 foram observadas em pacientes obesos e em vários modelos de obesidade em ratos (Valsamakis *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2003; Rask *et al.*, 2002; Livingstone *et al.*, 2000), sugerindo o importante papel do TAV como fonte de glicocorticóides. Ou seja, não há necessidade de aumento de glicocorticóides séricos, estes podem ser gerados localmente, no TAV, por ação enzimática.

#### **1.4 – PROGRAMAÇÃO METABÓLICA**

A teoria da programação descreve o processo pelo qual um estímulo em um período crítico do desenvolvimento (período perinatal) resulta em adaptações permanentes na estrutura, fisiologia e metabolismo corporais. Sabe-se que no início da vida, a janela do desenvolvimento está aberta por tempo limitado e que, depois desse período, é menos provável a programação (Godfrey & Barker, 2001; Godfrey & Barker, 2000; Csaba, 1994).

Neste breve período crítico, receptores hormonais estão amadurecendo na presença de hormônios, alcançando capacidade de ligação característica da idade adulta. A programação leva a alterações permanentes de secreção hormonal ou sensibilidade tecidual à ação hormonal (Godfrey & Barker, 2001; Csaba, 2000).

No período neonatal, o número de receptores nucleares de T<sub>3</sub> dobra, retornando à normalidade na idade adulta (Bianco & Kimura, 1999). A presença de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> no leite de ratas (Passos *et al.*, 2001b; Oberkotter & Tenore, 1983; Strbak *et al.*, 1974) e de seres humanos (Jansson *et al.*, 1983; Oberkotter & Tenore, 1983; Sack *et al.*, 1977) pode ter um significado fisiológico importante que ainda não foi bem esclarecido. Alguns autores (Bode *et al.*, 1978; Tenore *et al.*, 1980) sugerem que estes hormônios sejam absorvidos pelo trato gastrointestinal do lactente e possam prevenir o hipotireoidismo neonatal. Strbak *et al.* (1974) sugerem também que os HTs no leite têm uma função na regulação da tireóide do lactente, suprimindo parcialmente, o estímulo desta glândula.

Portanto, alguns autores sugerem que o “set point” da função tireóidea na idade adulta é determinado durante o crescimento fetal e período pós-natal, tendo o aleitamento materno um papel fundamental nesse efeito (Phillips *et al.*, 1993).

Apesar de o crescimento fetal ser determinado geneticamente, estudos sugerem a influência ambiental como possível estímulo programador, principalmente nutrientes e oxigênio fornecidos pela mãe (Barker, 1992). Estudos epidemiológicos clássicos têm demonstrado relação entre crescimento fetal insuficiente e desenvolvimento de doenças associadas à síndrome metabólica na idade adulta (Ravelli *et al.*, 1998; Barker *et al.*, 1993; Hales *et al.*, 1991).

Alguns estudos mostram a importância do balanço de macronutrientes na dieta materna para a programação, mas concentram-se nos efeitos da RC por limitação de ração e/ou RP na gestação ou lactação (Fagundes *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2007; Passos *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2004; Passos *et al.*, 2002; Passos *et al.*, 2000; Ozanne *et al.*, 1996; Desai *et al.*, 1995; Langley-Evans & Jackson, 1994; Stephens, 1980).

Na maioria destes estudos experimentais, a prole de ratas que foram submetidas à restrição na fase perinatal, apresentava maior massa corporal e/ou maior percentual de gordura corporal do que a prole controle, na idade adulta. Jones *et al.* (1986) atribuem o aumento da adiposidade nos animais adultos cujas mães foram submetidas à restrição na gestação à hipertrofia dos adipócitos, mais do que a hiperplasia, conseqüente a hiperfagia compensatória após o período de restrição. Entretanto, modelos de restrição na lactação mostram que a hiperplasia de adipócitos foi a maior responsável pelo aumento da gordura corporal (Cryer & Jones, 1980; Faust *et al.*, 1980).

Nosso grupo observou que filhotes adultos cujas mães sofreram RP na lactação permaneceram com menor peso corporal (Fagundes *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2007; Passos *et al.*, 2000) e apresentaram menores TAV e proporção de gordura corporal (Fagundes *et al.*, 2007), maiores corticosteronemia e conteúdo adrenal de catecolaminas (Fagundes *et al.*, 2007) e hipertireoidismo (Passos *et al.*, 2002). Vicente *et al.* (2004) observaram que a expressão do receptor para leptina na hipófise estava maior, mas esses animais apresentavam resistência ao seu efeito anorexigênico (Passos *et al.*, 2004).

A manipulação do tamanho da prole em roedores também vem sendo extensivamente usada como modelo experimental para o estudo dos efeitos da desnutrição na lactação, pois sabe-se que há uma relação inversa entre peso corporal e tamanho da ninhada. Os resultados destes estudos sugerem que o estado nutricional no período pós-natal imediato tem efeitos profundos e persistentes no tamanho e

composição corporal, evidenciando que a fase de lactação é uma janela mais crítica do desenvolvimento para a programação (López-Soldado *et al.*, 2006; Houdijk *et al.*, 2003).

Buckley *et al.* (2005) estudaram a programação do metabolismo de glicose e de lipídeos em proles de ratas gestantes alimentadas com dieta hiperlipídica, e observaram que estes animais aos três meses, entre outras alterações, apresentavam maior gordura corporal total e maior conteúdo hepático de triglicerídeos.

Reiser & Sidelman (1972), lançaram a hipótese de que alterando a concentração de colesterol no leite de ratas, através da maior ingestão de colesterol pela dieta, o metabolismo de colesterol da prole adulta poderia ser alterado. Trabalhos posteriores com leite hipercolesterolêmico, obtido com dieta hiperlipídica e hipercolesterolêmica a partir da última semana da gestação e na lactação, mostraram maior concentração sérica de colesterol na prole adulta (Coates *et al.*, 1983; Green *et al.*, 1981; Kris-Etherton, 1979).

Apesar da nutrição na fase perinatal ser consequência direta da (in) disponibilidade de substratos, sabe-se que seus efeitos também são mediados por alterações hormonais. Acredita-se que o hipotálamo tem papel central na programação pelo estado endócrino perinatal (Godfrey & Barker, 2000). A idéia de que a nutrição perinatal programa o hipotálamo; regulando posteriormente o apetite, o crescimento e o comportamento alimentar; vem sendo considerada (Moura & Passos, 2005).

A possibilidade de redução significativa de riscos em longo prazo através de intervenções focadas no período perinatal sugere um complemento eficaz às estratégias de prevenção realizadas em estágios posteriores da vida.

Assim, pretendemos testar em um modelo animal a hipótese de que o aumento na ingestão de gordura *trans* na lactação pode programar o peso e composição corporais e a função tireóidea, verificando qual o mecanismo básico para esta impressão metabólica. Este modelo justifica-se em face da crescente utilização de dietas hiperlipídicas para rápida perda de peso, inclusive no período de lactação, quando a paciente não recebe a orientação profissional adequada. Por outro lado, há um crescente aumento no percentual lipídico na dieta da população mundial, que em longo prazo pode influenciar na regulação do peso corporal das futuras gerações.

## 2-OBJETIVOS

Avaliar o efeito de uma dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos *trans* na lactação sobre a regulação da composição corporal, perfis lipídico e hormonal de ratas lactantes e suas proles.

Objetivos específicos:

1. Estudar nas ratas lactantes, ao final da lactação:

- ⇒ peso corporal e ingestão alimentar;
- ⇒ composição bioquímica do leite;
- ⇒ albumina sérica e perfil lipídico;
- ⇒ leptinemia;
- ⇒ corticosteronemia e conteúdo adrenal de catecolaminas;
- ⇒ função tireóidea;

2. Verificar a ocorrência de programação do peso e composição corporais, ingestão alimentar, concentrações séricas de leptina e corticosterona, catecolaminas adrenais, função tireóidea, perfil lipídico e albuminemia da prole aos 180 dias de idade.

### 3 - METODOLOGIA

#### 3.1- MODELO EXPERIMENTAL:

Nosso modelo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso animal do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ. Utilizamos 16 ratas Wistar fêmeas, nulíparas, de três meses de idade, mantidas em biotério com temperatura e ciclo claro-escuro controlados ( $25 \pm 1^\circ \text{C}$  e 7:00-19:00 h), acasaladas na proporção de 3 fêmeas para 2 machos. Durante a gestação, as ratas receberam água e ração comercial *ad libitum*. No dia do nascimento dos filhotes, as ratas foram divididas em dois grupos:

- ◆ Controle (C): livre acesso à água e ração normal (ração comercial Nuvilab®); percentuais calóricos: 23% de proteína, 66% de carboidrato e 11% de lipídeo.
- ◆ Dieta: livre acesso à água e ração hiperlipídica rica em ácidos graxos *trans*-isoméricos. Percentuais calóricos: 15% de proteína, 55% de carboidrato e 30% de lipídeo.

A dieta hiperlipídica é hipercalórica em relação à ração controle, e foi preparada no laboratório, com adição de gordura vegetal hidrogenada (rica em ácidos graxos *trans*-isoméricos) e leite condensado (tabela 2). Este tratamento foi baseado em modelo proposto por Aoyama *et al.* (2000) e foi mantido durante toda a lactação (21 dias).

Tabela 2: Composição das dietas (g/100g de dieta)

Componente	Dieta controle	Dieta hiperlipídica
Ração comercial	100,0	60,0
Gordura veg. hidrogenada		25,0
Leite condensado		15,0
Proteína (%)	23	15
Carboidratos (%)	66	55
Lipídeos (%)	11	30
Energia (kcal/100g)	407,4	519

Fonte: adaptado de Aoyama *et al.* (2000).

Esta dieta tenta reproduzir a composição de nutrientes da dieta ocidental atual, com alta proporção de alimentos industrializados, muitos dos quais hiperlipídicos e ricos em ácidos graxos *trans*, com uma redução na proporção de proteínas e relativa manutenção do teor de carboidratos.

Em ambos os grupos, as ninhadas foram ajustadas para 6 filhotes machos ao nascimento (dia 0), com o objetivo de alcançar maior potencial lactotrófico (Fishbeck & Rasmussen, 1987), sem, entretanto, alterar significativamente a composição do leite (Crnic & Chase, 1978; Yagil *et al.*, 1976).

Aos 21 dias de lactação coletamos amostras de leite, seguindo metodologia descrita por vários autores (Pine *et al.*, 1994; Fellows & Rasmussen, 1984; Keen *et al.*, 1981) e padronizada no laboratório (Passos *et al.*, 2000).

No 21º dia pós-parto (desmame), as ratas lactantes foram sacrificadas após anestesia com pentobarbital (0,15 ml/ 100 g de PC, i.p.). As proles receberam dieta normal e dois animais de cada rata, escolhidos aleatoriamente, foram sacrificados aos 180 dias de idade. É importante ressaltar que apenas as mães foram submetidas ao tratamento dietético, e que os filhotes após o desmame receberam ração controle. Entretanto, para simplificar, também serão chamados de grupo *controle* ou grupo *dieta*.

Retiramos sangue, tireóide, adrenal, fígado e TAV (epididimal, retroperitoneal, visceral). A carcaça eviscerada foi congelada para posterior análise de composição corporal. Sangue, homogenato de adrenal e carcaças foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e os demais tecidos a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

### **3.2- AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL:**

Peso corporal e ingestão alimentar foram monitorados em intervalos de 4 dias. A quantidade de ração ingerida é igual a diferença entre o peso da ração que restou na gaiola ( $R_f$ ) e a quantidade total colocada 4 dias antes ( $R_i$ ). Esses dados foram então usados para calcular a ingestão diária de ração, de acordo com a fórmula:

$$\text{Ingestão de ração (g)} = \left[ \frac{R_i - R_f}{n} / 4, \right]$$

Onde  $n$  corresponde ao número de animais em cada gaiola e 4 é o número de dias.

A partir da quantidade de ração ingerida pelos animais, foi feito o cálculo da ingestão diária de calorias, utilizando-se uma Tabela de Composição Química dos Alimentos (Franco, 1992).

A determinação da concentração de albumina sérica foi feita por método colorimétrico (Bioclin, Belo Horizonte, MG) para confirmar o estado nutricional dos animais.

### **3.3- AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL:**

O conteúdo lipídico e protéico das carcaças foram determinados segundo adaptação do método descrito por Leshner *et al.* (1972).

Após sacrifício, o trato gastrointestinal foi removido e todas as vísceras foram retiradas. O conteúdo de TAV foi dissecado, pesado, e devolvido à carcaça. Em seguida as carcaças foram pesadas, amolecidas em autoclave por 1 hora e homogeneizadas em água destilada na proporção 1:1.

Alíquotas contendo cerca de 3 g do homogeneizado foram utilizadas para a determinação do conteúdo de gordura por método gravimétrico (Stansbie *et al.*, 1976). As alíquotas foram hidrolisadas em banho maria a 70°C por 2 horas na presença de KOH 30% e 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 volume total da extração foi evaporado em capela a temperatura ambiente, e o teor de gordura foi determinado gravimetricamente. Após a pesagem foram corrigidas as diluições e os dados foram expressos em gramas de gordura por 100 gramas de carcaça.

O conteúdo protéico foi determinado em alíquotas contendo 1 g do homogeneizado, que foram aquecidas a 37°C por 1 hora em KOH 0,6N, sob agitação. Após centrifugação (2000rpm, 10 minutos), a concentração de proteínas totais foi determinada colorimetricamente no sobrenadante (Lowry *et al.*, 1951), utilizando-se curva padrão de albumina bovina fração V. Os dados foram expressos em gramas de proteína por 100 gramas de carcaça.

O conteúdo de água corporal foi determinado em alíquotas de 1 g do homogeneizado, pesados em cadinhos e colocados em estufa para secagem “overnight” (Comizio *et al.*, 1998). A diferença entre peso final e inicial, descontando-se a tara, foi

corrigida pela diluição. Os dados foram expressos em gramas de água por 100 gramas de carcaça.

A partir da alíquota seca (obtida pela secagem em estufa), foi determinado o teor de cinzas das amostras (Comizio *et al.*, 1998). Os cadinhos foram colocados em mufla a 600°C “overnight”, e os resíduos foram pesados. A diferença entre o peso final e inicial, descontando-se a tara, correspondeu ao conteúdo de cinzas, que também foi expresso em gramas por 100 gramas de carcaça.

### **3.4- DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE LIPÍDEOS:**

Para a dosagem de triglicerídeos, colesterol total e HDL-c séricos, foi utilizado o método enzimático colorimétrico através de kits comerciais (Bioclin, Belo Horizonte, MG). O LDL-c foi quantificado de acordo com a fórmula proposta por Friedewald (1972), onde:

$$\text{LDL} = \text{colesterol total} - (\text{HDL} + \text{TG}/5)$$

Sendo:  $\text{TG} = \text{triglicerídeo}$ ;  $\text{TG}/5 = \text{VLDL}$

Os valores obtidos pela fórmula em g/L foram convertidos para mg/dL.

Para a determinação dos índices aterogênicos, foram utilizadas as fórmulas propostas por Friedewald (1972), onde:

$$\text{Castelli I} = \text{colesterol total} / \text{HDL}$$

$$\text{Castelli II} = \text{LDL} / \text{HDL}$$

### **3.5- DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS HORMONAIS:**

As concentrações séricas de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> totais foram determinadas por radioimunoensaio (RIE) comercial (ICN Pharmaceuticals Inc, New York, USA), adaptado para determinação de hormônios tireóideo em ratos (Moura *et al.*, 1987). O T<sub>3</sub> apresentou sensibilidade de 0,1 nmol/L e coeficiente de variação intra-ensaio de 5,6%, sendo os valores expressos em ng/dL. O coeficiente de variação intra-ensaio para o T<sub>4</sub> foi de 3,3% com limite de detecção de 0,0015 nmol/L, e os valores foram expressos em µg/dl.

O TSH sérico foi quantificado por RIE de duplo anticorpo. Utilizou-se TSH murino marcado com  $^{125}\text{I}$  pelo método da cloramina T (Ortiga, 1992). O TSH murino, para a iodação, a curva padrão e o anticorpo específico para TSH murino, produzido em coelho (primeiro anticorpo), foram fornecidos pelo National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDKD, Bethesda, USA). Os resultados foram expressos de acordo com a referência da preparação (RP3). A variação intra-ensaio foi de 4,5% e os valores foram expressos em ng/ml.

As concentrações séricas de leptina foram avaliadas por RIE, através de Kit comercial para dosagem de leptina de ratos (LINCO Research, Inc., Missouri, USA). Os valores séricos de leptina foram expressos em ng/ml. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 6,9 % e o limite de detecção foi de 0,5 ng/ml.

As concentrações séricas de corticosterona foram determinadas através de RIE, utilizando kit específico para ratos (MP Biomedicals, LLC, USA). Os valores foram expressos em ng/ml. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 4,4% e o limite de detecção foi de 25 ng/ml.

### **3.6- DOSAGEM DE CATECOLAMINAS:**

As catecolaminas totais – epinefrina e norepinefrina – foram quantificadas pelo método fluorimétrico de trihidroxiindol (Kelner *et al.*, 1985), adaptado por Trevenzoli *et al.* (2007).

As glândulas adrenais foram rapidamente retiradas, homogeneizadas em 1mL de ácido acético e congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Este homogenato foi centrifugado, e do sobrenadante foi retirada uma alíquota de 200 $\mu\text{L}$  para o ensaio. A essa alíquota foram acrescentados 250 $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (0,5M; pH 7,0) e 25 $\mu\text{L}$  de ferricianeto de potássio 0,5%, e essa mistura foi incubada por 20 minutos. Para interromper a reação, foi adicionado 500 $\mu\text{L}$  de ácido ascórbico/NaOH 10M (na proporção 1:19). Após adicionar 2mL de água destilada, a leitura da fluorescência foi realizada a 420nm de excitação e 510nm de emissão (Victor2, PerkinElmer, E.U.A.). O trihidroxiindol formado é proporcional à quantidade de catecolaminas e foi expresso como  $\mu\text{g}$  de catecolaminas/glândula adrenal.

### **3.7- QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA GLICEROFOSFATO DESIDROGENASE MITOCONDRIAL (GPDm) NO FÍGADO:**

A dosagem da atividade GPDm baseia-se na técnica colorimétrica descrita previamente (Lee & Lardy, 1965), cujo princípio é o uso do metassulfato de fenacina (PMS) como transportador eletrônico entre a enzima reduzida e o cloreto de violeta-iodonitrotetrazólio (INT) e que foi adaptada em nosso laboratório (Oliveira *et al.*, 2007).

Cerca de 250mg de tecido hepático foram homogeneizados em 20 volumes de solução SM (sacarose 0,32 M e cloreto de magnésio 1mM) em Ultra-Turrax e centrifugado (1.000xg/10 min/4°C), para separar o precipitado nuclear (descartado) e utilizar o sobrenadante, que foi centrifugado (8.500xg/10 min/4°C). O precipitado resultante desta segunda centrifugação foi ressuspenso em 3 ml de tampão fosfato 0,125M pH 7,5 (BPK), sob agitação em vórtex, seguido de nova centrifugação (8.500xg/10 min/4°C). O sobrenadante foi descartado, obtendo-se a fração mitocondrial (precipitado), sendo esta ressuspendida em 1ml de BPK no momento da dosagem da atividade enzimática.

Para o ensaio da atividade GPDm, 100µl da fração mitocondrial foram pipetados em 4 tubos (2 brancos e 2 problemas). Nos tubos problemas, pipetamos 50µl de solução DL-α-glicerofosfato hexahidratado sal sódica (α-GP - 32,4 mg/ml) diluído em KCN (cianeto de potássio - 0,32mg/ml em tampão BKP pH7,5-0,125M) e nos tubos brancos, apenas 50µl de KCN. Incubamos por 10 min, a 30°C, seguido de um banho frio. Iniciamos a reação adicionando 100µl da solução INT-PMS por 15 minutos, a temperatura ambiente, no escuro. Precipitamos as amostras com 50µL de ácido tricloroacético (TCA) a 10%, ainda em ambiente escuro. Então, com a luz acesa, foi acrescentado 1ml de etanol absoluto, com agitação em vortex e posterior centrifugação das amostras (1.000xg/5 min.) A leitura da absorbância do sobrenadante foi realizada a 500nm e os resultados foram expressos como A/min/mg de proteína mitocondrial.

### **3.8- DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DESIODASE:**

A atividade desiodase na fração microsomal do fígado e tireóide foi quantificada pela liberação de <sup>125</sup>I a partir de <sup>125</sup>I-rT<sub>3</sub>, conforme descrito anteriormente (Pazos *et al.*, 1991) adaptado por Lisboa *et al.* (2003).

Antes dos ensaios, o <sup>125</sup>I-rT<sub>3</sub> (Perkinelmer) foi purificado por eletroforese em papel, evitando a contaminação da reação enzimática pela presença de <sup>125</sup>I livre. Pipetamos 50µl

do  $^{125}\text{I-rT}_3$  (1,07 mCi/ $\mu\text{g}$ ) em papel de filtro Whatman n° 3. Aplicamos uma corrente de 500 Volts, 25mA por 15 minutos. O  $^{125}\text{I-rT}_3$  foi extraído do papel com NaOH 0,04N em tampão fosfato de potássio 1M e EDTA 10mM, pH 6,9.

O ensaio enzimático foi realizado em tampão fosfato de potássio 100mM e EDTA 1mM, pH 6,9, em presença de rT3 e DTT (ditiotreitól). Na tireóide, para avaliar a atividade D2 utilizamos PTU (propiltiouracil) e para avaliar a D1, usamos 100nM de  $\text{T}_4$ . Adicionamos 50 $\mu\text{l}$  do traçador purificado às amostras, seguido de incubação em banho-maria sob agitação constante, a 37°C. Após o tempo de incubação (D1: 30 minutos e D2 60 minutos), a reação foi interrompida pela adição de BSA 8% e PTU 10mM, seguido de TCA 20% gelado. As amostras foram centrifugados a 2.000 rpm, 4°C por 5 minutos.

Para separação do  $^{125}\text{I}$  liberado na incubação, após a centrifugação, cerca de 80% do sobrenadante foi aplicado em coluna com resina de troca catiônica (Dowex 50W-X2 Sigma-Aldrich), eluindo o  $^{125}\text{I}$  livre com 2 ml ácido acético a 10%. A radioatividade do eluato foi determinada em um contador gama de fase sólida. A atividade específica foi expressa em nanomoles e picomoles de rT<sub>3</sub> desiodado por hora e mg de ptn.

### **3.9- ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DO LEITE:**

#### **Dosagem da Proteína Total:**

A quantidade de proteína total do leite foi determinada através do método de Peterson (1977). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 750 nm.

#### **Dosagem dos Lipídeos:**

Para a determinação dos lipídeos do leite das ratas foi utilizado o método enzimático colorimétrico através dos kits comerciais da Bioclin (para dosagem de colesterol total e triglicérido no soro). Como a concentração lipídica do leite de ratas é cerca de 5 a 10 vezes maior (Pine *et al.*, 1994; Keen *et al.*, 1981) que a do soro humano, as amostras foram diluídas em soro fisiológico (1:25) para determinação dos triglicéridos, não sendo necessária diluição para dosagem de colesterol total. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm.

### **3.10- ANÁLISE ESTATÍSTICA:**

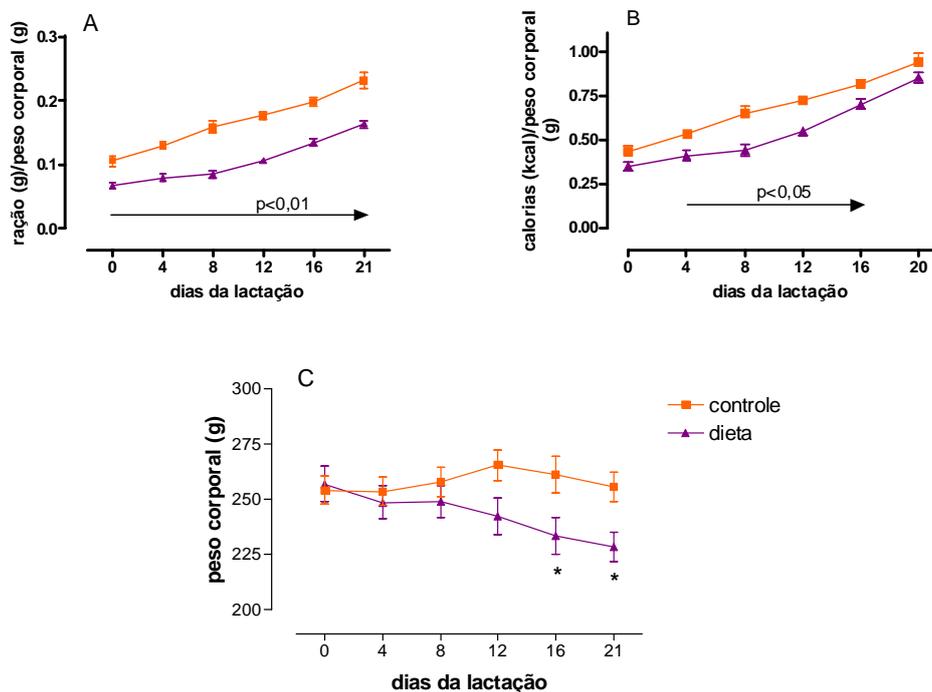
Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão. As diferenças entre os grupos controle e dieta foram determinadas através de teste t de Student. Para a análise do TSH foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney e para os dados de evolução de peso e de ingestão, utilizamos Anova bivariada com pós-teste de Bonferroni. O nível de significância considerado foi de  $p < 0,05$  (Zar, 1998).

## 4 - RESULTADOS

### 4.1- LACTAÇÃO

O gráfico 1A mostra o consumo de ração proporcional ao peso corporal das ratas no período de lactação. O grupo dieta apresentou menor ingestão de ração durante todo o período ( $F(1,113)=226,25$ ;  $p<0,0001$ ). Ao final da lactação, essa diferença na ingestão alimentar correspondeu a uma redução de 30%. A ingestão absoluta também foi menor, chegando ao desmame com uma diferença de 37% ( $C=58,6 \pm 2,2$ ;  $D=36,8 \pm 1,5$ ;  $p<0,0001$ ). E a ingestão calórica relativa (gráfico 1B) também foi menor para o grupo dieta durante quase toda a lactação ( $F(1,113)=51,22$ ;  $p<0,001$ ).

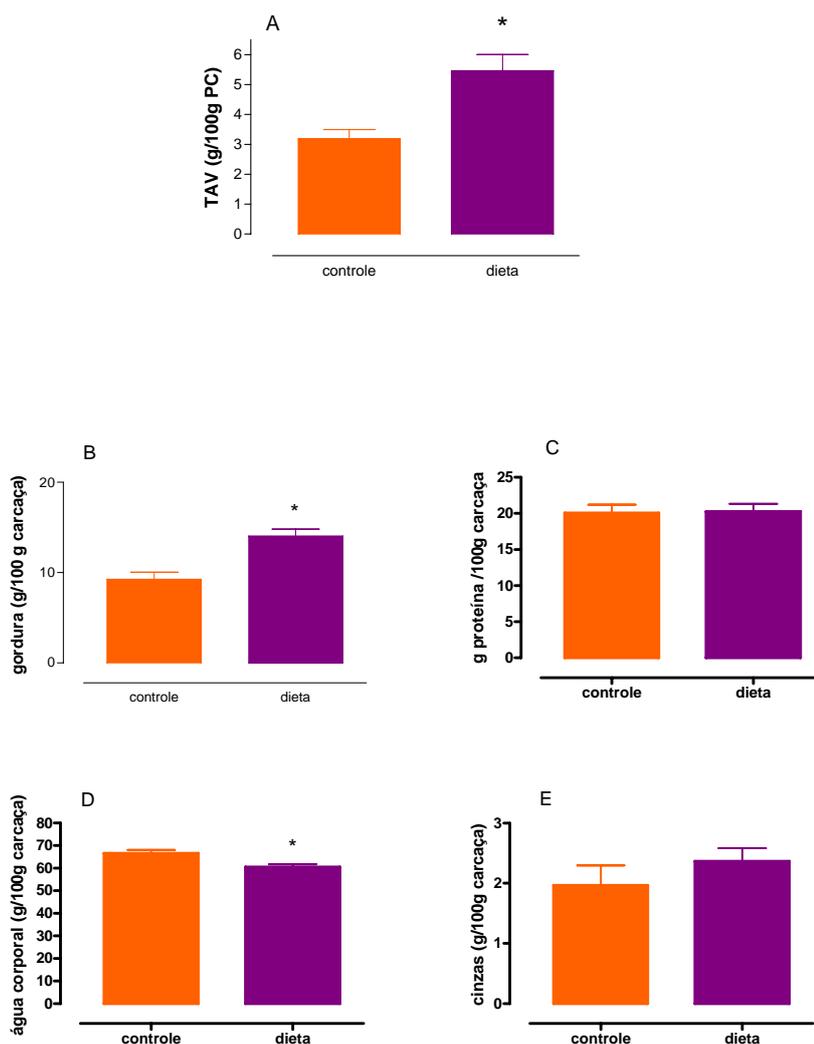
No gráfico 1C, observamos que as ratas do grupo dieta apresentaram perda de peso significativa ( $F(1,120)=12,35$ ;  $p<0,001$ ) a partir do dia 16 da lactação chegando a uma diferença de quase 11% aos 21 dias.



**Gráfico 1:** Ingestão relativa de ração (A) e de calorias (B), e peso corporal (C) de ratas dos grupos controle e dieta no período de lactação. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 8 animais. \*  $p<0,05$

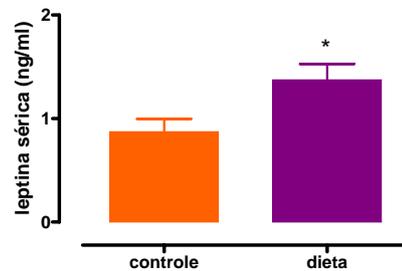
O gráfico 2 (A) mostra que a dieta foi responsável por maior percentual de TAV relativo (proporcional ao peso corporal) das ratas lactantes (71%;  $p < 0,005$ ).

A composição corporal da carcaça das ratas aos 21 dias da lactação pode ser observada no gráfico 2 (B, C, D e E). A dieta foi responsável por maior conteúdo de gordura (51%;  $p < 0,005$ ), e menor conteúdo de água (9%;  $p < 0,005$ ). Não foram observadas diferenças nos conteúdos de proteína e cinzas corporais.



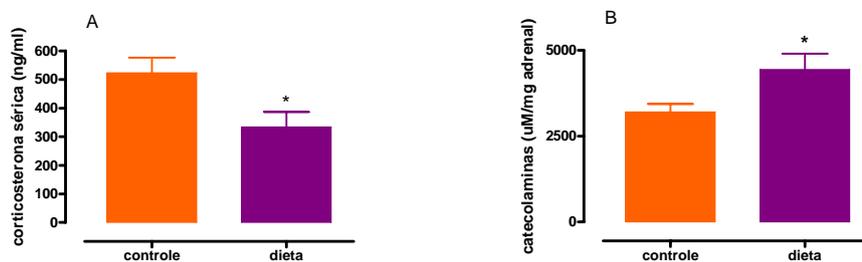
**Gráfico 2:** Conteúdo de TAV (A) e composição corporal (B, C, D, E) de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação. Os dados são expressos como média ± erro padrão de 8 animais. \*  $p < 0,005$

O gráfico 3 mostra que as ratas que receberam dieta durante a lactação apresentaram maior concentração sérica de leptina (57%;  $p < 0,05$ ).



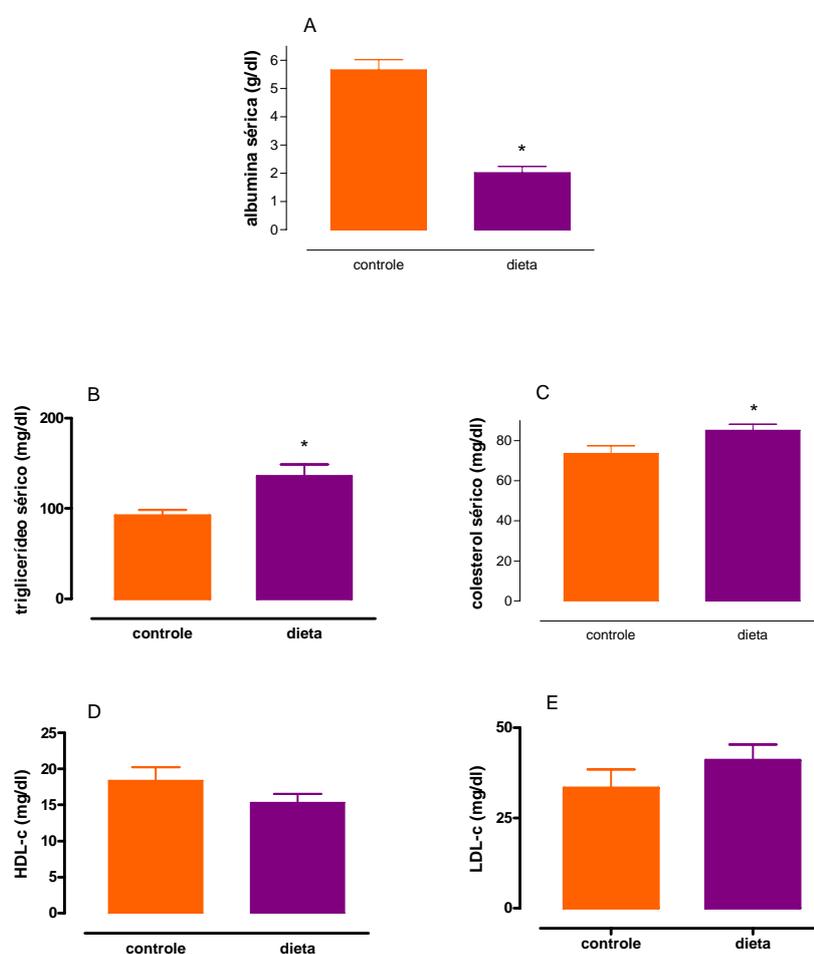
**Gráfico 3:** Leptina sérica de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 8 animais. \*  $p < 0,05$ .

Esta dieta hiperlipídica rica em AG *trans* levou à menor (36%;  $p < 0,05$ ) concentração de corticosterona sérica (A) e maior (39%;  $p < 0,05$ ) conteúdo adrenal de catecolaminas das ratas lactantes (gráfico 4).



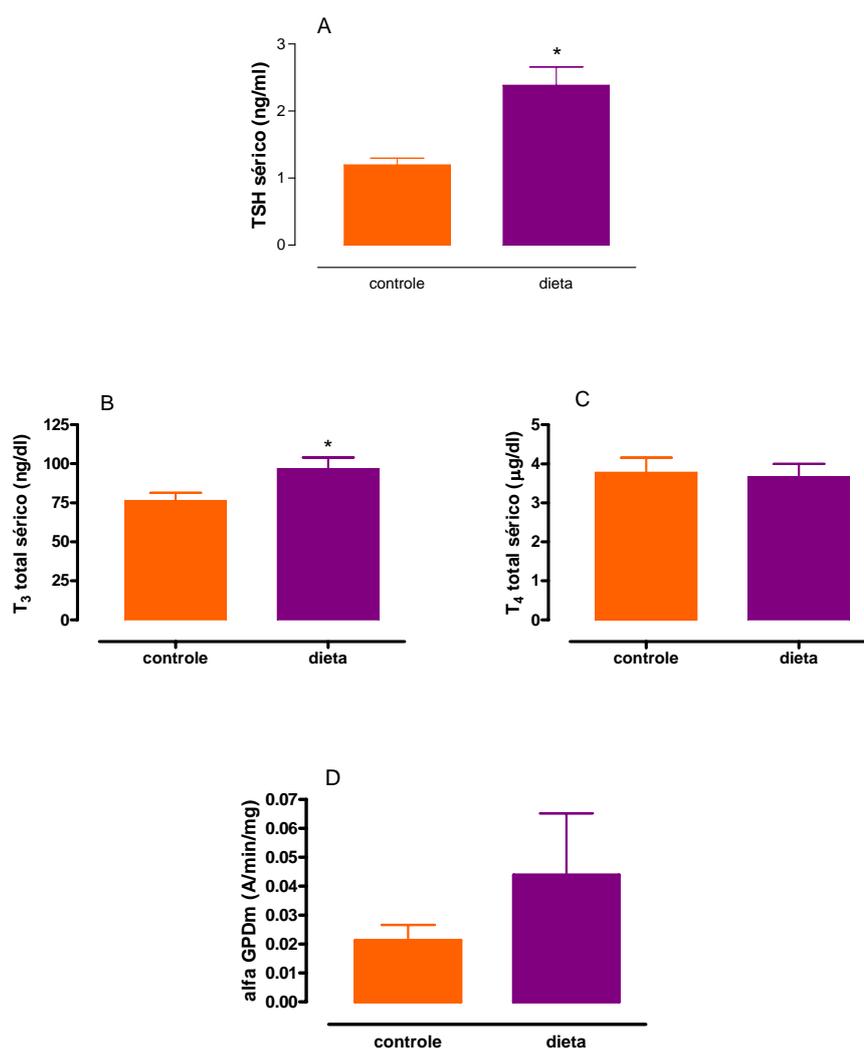
**Gráfico 4:** Corticosterona sérica (A) e conteúdo adrenal de catecolaminas (B) de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 8 animais. \*  $p < 0,05$ .

O gráfico 5 refere-se a parâmetros bioquímicos do soro das ratas no dia 21 da lactação. A dieta levou à menor (63%;  $p < 0,05$ ) albuminemia (A), maior (47%;  $p < 0,05$ ) trigliceridemia (B) e maior (16%;  $p < 0,05$ ) concentração de colesterol total (C). A fração HDL-c (D) estava menor, porém esta diferença não foi significativa (17%;  $C = 18,41 \pm 1,83$ ;  $D = 15,36 \pm 1,18$ ) e a fração LDL-c (E) estava maior, porém não significativa (23%;  $C = 33,35 \pm 5,08$ ;  $D = 41,03 \pm 4,3$ ). As ratas do grupo dieta apresentaram maiores índices aterogênicos Castelli I ( $C=4,09 \pm 0,45$ ;  $D=6,85 \pm 1,11$ ;  $p<0,05$ ) e Castelli II ( $C=1,78 \pm 0,34$ ;  $D=3,77 \pm 0,55$ ;  $p<0,01$ ).



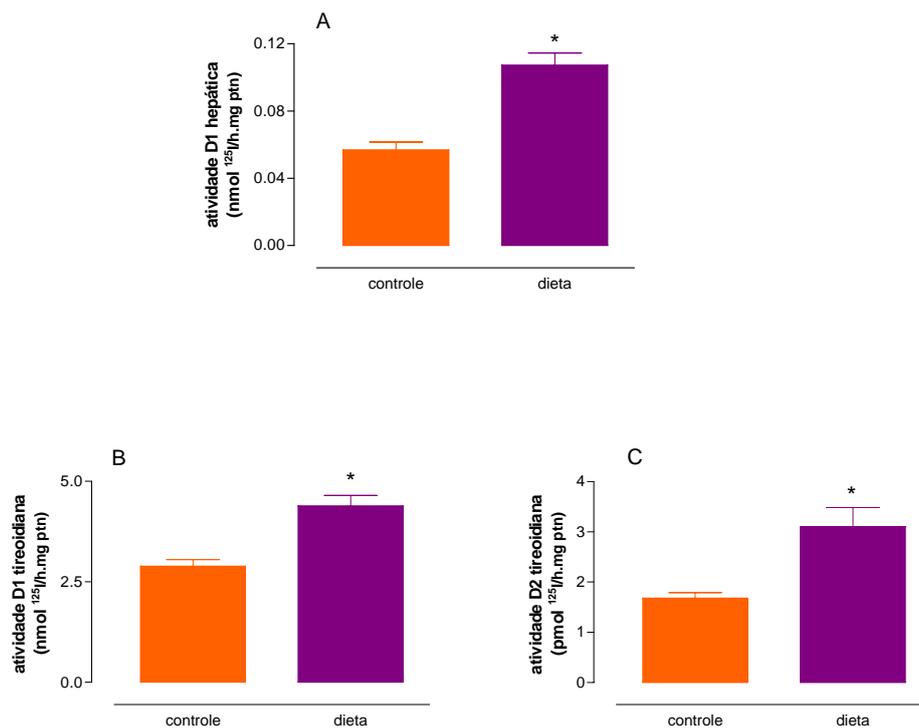
**Gráfico 5:** Albuminemia (A), trigliceridemia (B), colesterol total sérico (C), HDL-colesterol sérico (D) e LDL-colesterol sérico (E) de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 8 animais. \*  $p < 0,05$ .

O gráfico 6 mostra dados da função tireóidea das ratas lactantes ao final da lactação. A dieta levou a maiores concentrações séricas de TSH (100%;  $p < 0,005$ ) (A) e de  $T_3$  (27%;  $p < 0,005$ ) (B). O  $T_4$  (C) não sofreu alteração ( $C = 3,787 \pm 0,3695$ ;  $D = 3,668 \pm 0,3370$ ). A GPDm hepática (D) foi maior, mas essa diferença de 50% não foi significativa ( $C = 0,02 \pm 0,005$ ;  $D = 0,04 \pm 0,02$ ).



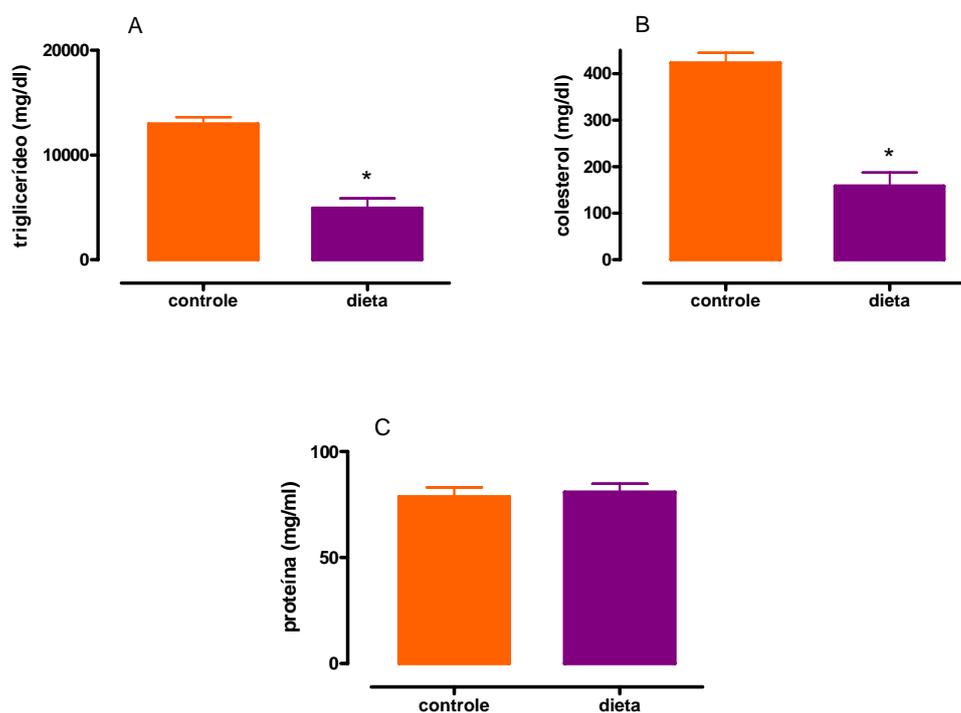
**Gráfico 6:** Concentrações séricas de TSH (A),  $T_3$  total (B),  $T_4$  total (C) e atividade da GPD-m hepática (D) de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 8 animais. \*  $p < 0,005$ .

O gráfico 7 mostra que a dieta hiperlipídica rica em AG *trans* aumentou a atividade de todas as desidases estudadas nas mães ao desmame: D1 hepática (A) (100%;  $p < 0,005$ ), D1 tireóidea (B) (50%;  $p < 0,005$ ), e D2 tireóidea (C) (94%;  $p < 0,005$ ).



**Gráfico 7:** Atividade das desidases D1 hepática (A), D1 tireóidea (B) e D2 tireóidea (C) de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação. Os dados são expressos como média ± erro padrão de 8 animais. \*  $p < 0,005$ .

A composição bioquímica do leite das ratas aos 21 dias da lactação é mostrada no gráfico 8. A dieta levou a menores concentrações de triglicerídeos (A) e colesterol total (B) (62%;  $p < 0,001$ ; para ambos). A concentração de proteína (C) não sofreu alterações.

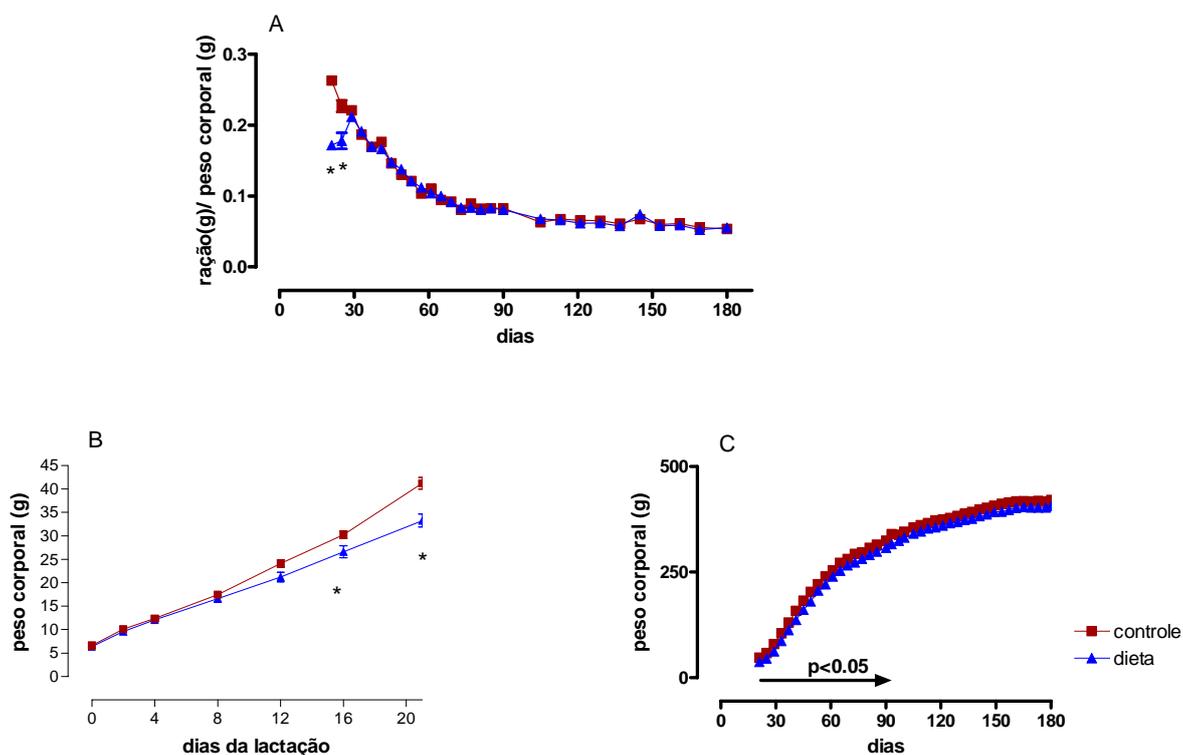


**Gráfico 8:** Concentrações de triglicerídeos (A), colesterol total (B) e proteína (C) no leite de ratas dos grupos controle e dieta no dia 21 da lactação. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 8 animais. \*  $p < 0,001$ .

## 4.2-PROGRAMAÇÃO

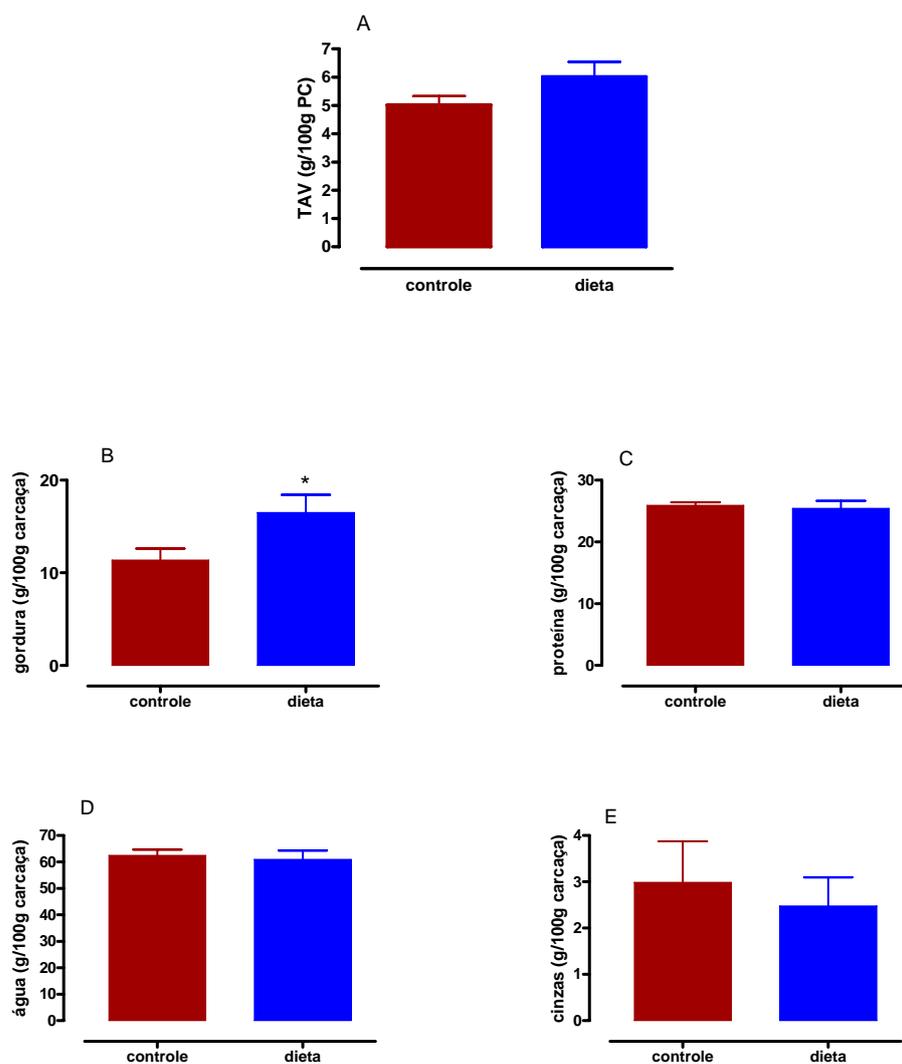
O gráfico 9 mostra o consumo de ração relativa (A) das proles das ratas dos grupos controle e dieta, do desmame até os 180 dias. O grupo dieta apresentou consumo de ração menor ( $p<0,05$ ) apenas até o dia 25, igualando-se ao grupo controle por toda a vida adulta.

Na lactação, os filhotes do grupo dieta apresentaram menor ( $p<0,05$ ) peso corporal a partir do dia 16 até o desmame (9B). Essa redução persistiu até os 97 dias de idade, tornando-se igual ao grupo controle a partir desta data (9C). Aos 180 dias, a média de peso dos filhotes do grupo controle foi de  $421,1 \pm 7,589$  g, enquanto que a média do grupo dieta foi de  $406,7 \pm 9,174$  g (redução de 3,5%).



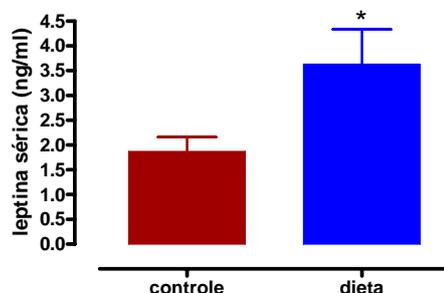
**Gráfico 9:** Ingestão relativa de ração (A) e peso corporal (B) de filhotes dos grupos controle e dieta desde o desmame até os 180 dias. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – mães com livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação; filhotes com livre acesso à água e ração normal após o desmame. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 16 animais. \*  $p<0,05$ .

No gráfico 10A, observamos aos 180 dias, que a prole do grupo dieta apresentou maior TAV (20%), mas sem diferença significativa ( $6,02 \pm 0,52$  vs  $5,02 \pm 0,31$  g/100g PC). Estes animais apresentaram maior percentual de gordura corporal (45%;  $p < 0,005$ ) (B) e os demais compartimentos não sofreram alterações (C, D e E).



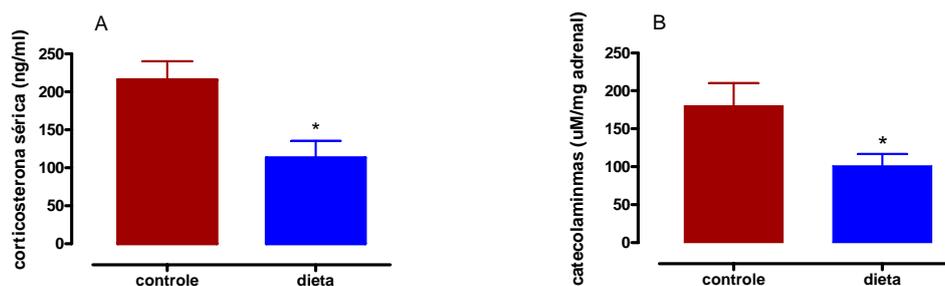
**Gráfico 10:** Conteúdo de TAV (A) e composição corporal (gordura -B, proteína - C, água - D e cinzas - E) de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – mães com livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação; filhotes com livre acesso à água e ração normal após o desmame. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 16 animais. \*  $p < 0,005$ .

A leptinemia (gráfico 11) nos filhotes do grupo dieta foi 2 vezes maior ( $p < 0,05$ ) que o grupo controle.



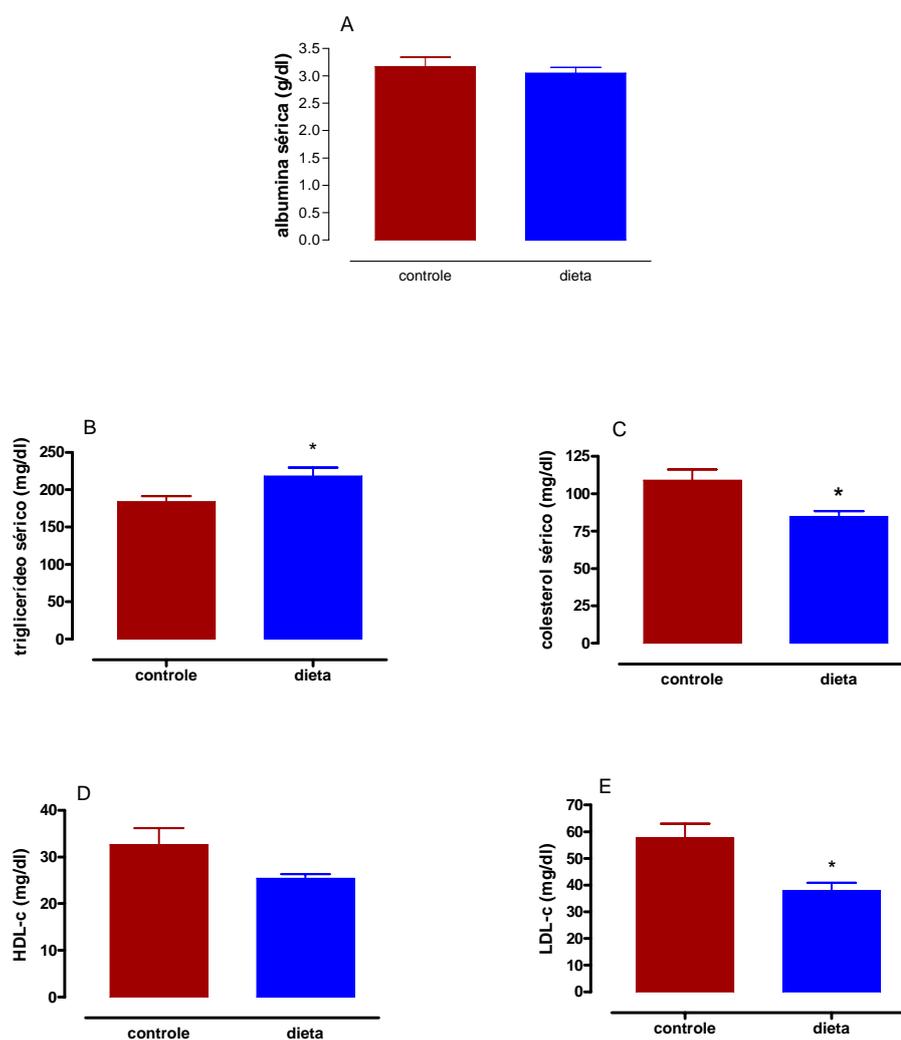
**Gráfico 11:** Leptina sérica de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – mães com livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação; filhotes com livre acesso à água e ração normal após o desmame. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 16 animais. \*  $p < 0,05$

O gráfico 12 ilustra dois parâmetros da função adrenal dos filhotes. O grupo dieta apresentou menor concentração sérica de corticosterona (A) (50%;  $p < 0,05$ ) e menor conteúdo adrenal de catecolaminas (B) (56%;  $p < 0,05$ ).



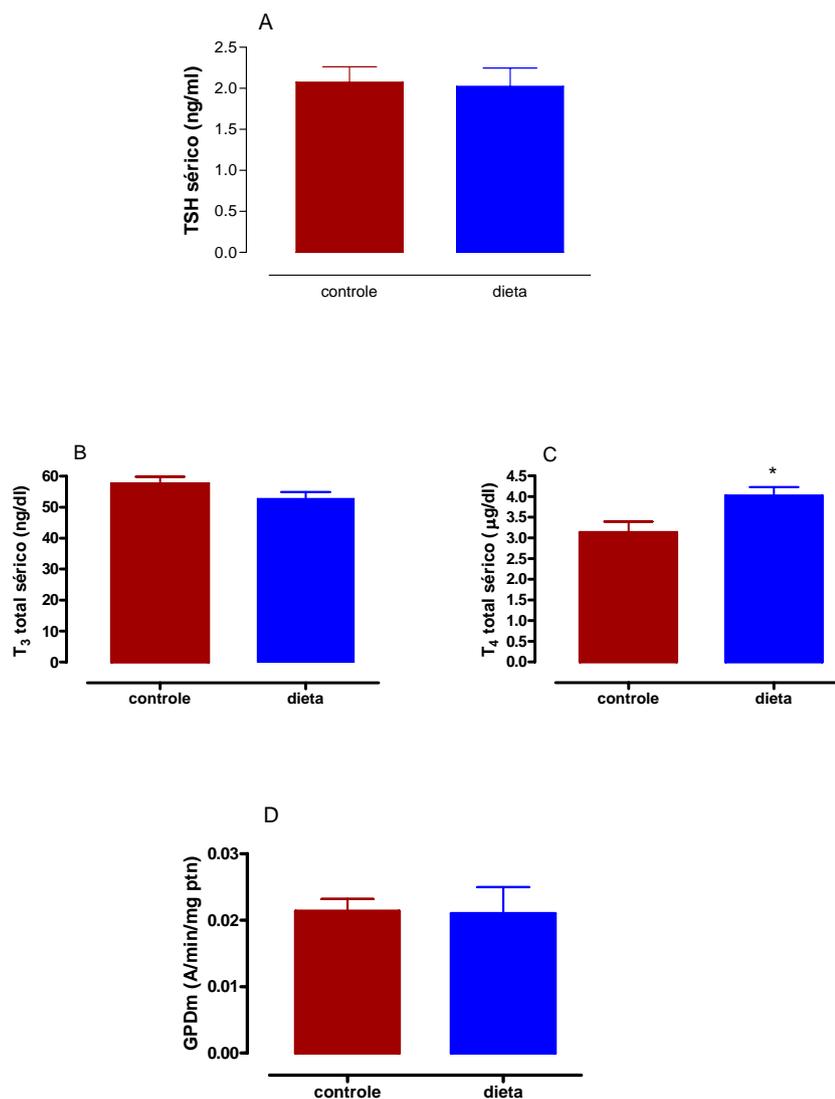
**Gráfico 12:** Corticosterona sérica (A) e conteúdo adrenal de catecolaminas (B) de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – mães com livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação; filhotes com livre acesso à água e ração normal após o desmame. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 16 animais. \*  $p < 0,05$

O perfil bioquímico do soro dos filhotes aos 180 dias pode ser visto no gráfico 13. A albuminemia (A) não diferiu entre os grupos. A prole do grupo dieta apresentou maior concentração sérica de triglicerídeos (B) (20%;  $p < 0,05$ ), e menores concentrações séricas de colesterol (C) (22%;  $p < 0,05$ ), HDL-c (D) (22%), e LDL-c (E) (34%;  $p < 0,05$ ). Não houve diferença entre os grupos para os índices de Castelli I ( $C = 3,45 \pm 0,22$ ;  $D = 3,93 \pm 0,69$ ) e II ( $C = 1,81 \pm 0,24$ ;  $D = 1,39 \pm 0,21$ ).



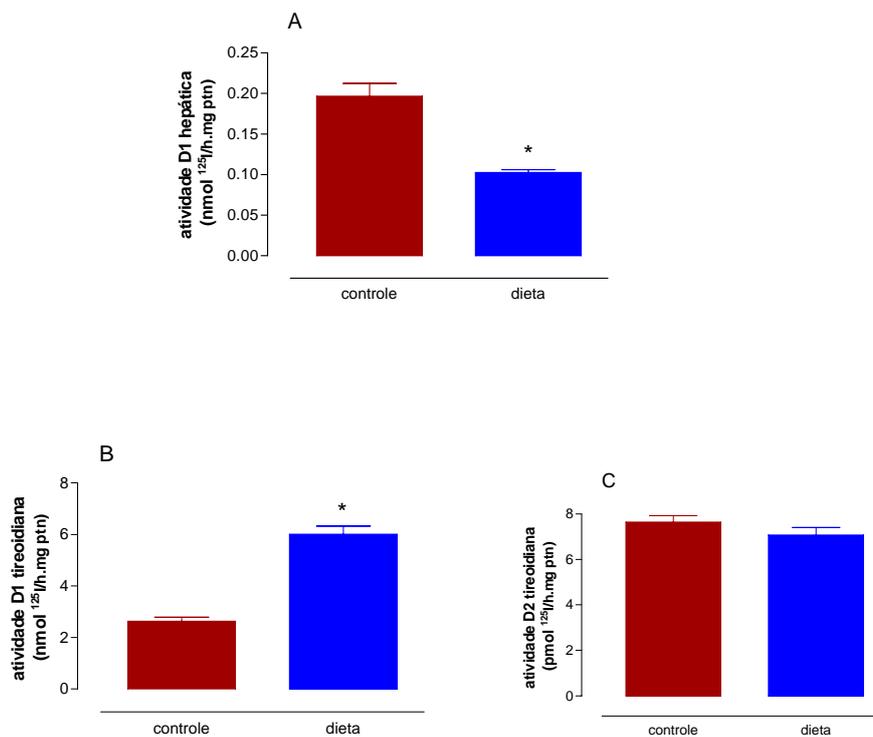
**Gráfico 13:** Albuminemia (A), trigliceridemia (B), colesterol total sérico (C), HDL-colesterol sérico (D) e LDL-colesterol sérico (E) de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – mães com livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação; filhotes com livre acesso à água e ração normal após o desmame. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 16 animais. \*  $p < 0,05$ .

O gráfico 14 mostra dados da função tireóideia dos filhotes aos 180 dias. O grupo dieta apresentou maior  $T_4$  total no soro (C) (28%,  $p<0,05$ ), sem alteração nas concentrações de TSH (A) e de  $T_3$  total (B), nem da atividade GPD-m (D) hepática.



**Gráfico 14:** Concentrações séricas de TSH (A),  $T_3$  total (B),  $T_4$  total (C) e atividade da GPD-m hepática (D) de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – mães com livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação; filhotes com livre acesso à água e ração normal após o desmame. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 16 animais. \*  $p<0,05$ .

O gráfico 15 mostra a atividade desidase nas proles aos 180 dias. A atividade D1 hepática foi menor (47%;  $p < 0,0001$ ) e a D1 tireóidea foi 2,3 vezes maior ( $p < 0,0001$ ) no grupo dieta.



**Gráfico 15:** Atividade das desidases D1 hepática (A), D1 tireóidea (B) e D2 tireóidea (C) de filhotes dos grupos controle e dieta aos 180 dias. Grupo controle – livre acesso à água e ração normal; Grupo dieta – mães com livre acesso à água e dieta hiperlipídica rica em AG *trans* durante a lactação; filhotes com livre acesso à água e ração normal após o desmame. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de 16 animais. \*  $p < 0,0001$ .

As tabelas 3 e 4 resumem os dados observados nas ratas lactantes e nos seus filhotes.

Tabela 3: Resumo dos resultados observados nas ratas lactantes aos 21 dias.

	<b>CONTROLE</b>	<b>DIETA</b>
<b>Ingestão relativa final</b>	0,23 ± 0,010	0,16 ± 0,005 *
<b>Peso corporal final</b>	255,6 ± 7,3	228,3 ± 6,6 *
<b>Albumina sérica</b>	5,28 ± 0,5	1,91 ± 0,2 *
<b>TAV</b>	3,2 ± 0,3	5,5 ± 0,5 *
<b>Gordura corporal</b>	9,3 ± 0,77	14,04 ± 0,77 *
<b>Proteína corporal</b>	20,05 ± 1,16	20,28 ± 1,03
<b>Água corporal</b>	66,62 ± 1,5	60,59 ± 1,2 *
<b>Cinzas corporal</b>	1,96 ± 0,3	2,37 ± 0,2
<b>Colesterol sérico</b>	73,6 ± 3,8	85,2 ± 3,0 *
<b>HDL-c sérico</b>	18,4 ± 1,8	15,4 ± 1,2
<b>LDL-c sérico</b>	33,4 ± 5,1	41,0 ± 4,3
<b>Castelli I</b>	4,09 ± 0,45	6,85 ± 1,11 *
<b>Castelli II</b>	1,78 ± 0,34	3,77 ± 0,55 *
<b>Triglicerídeo sérico</b>	91,85 ± 6,7	135,4 ± 13,3 *
<b>Leptina sérica</b>	0,87 ± 0,12	1,37 ± 0,15 *
<b>Corticosterona</b>	523,6 ± 52,8	333,6 ± 52,6 *
<b>Catecolaminas</b>	3204 ± 237	4445 ± 460 *
<b>TSH</b>	1,2 ± 0,09	2,4 ± 0,27 *
<b>T3 total</b>	76,59 ± 4,8	96,97 ± 7,04 *
<b>T4 total</b>	3,79 ± 0,37	3,67 ± 0,34
<b>D1 fígado</b>	0,06 ± 0,005	0,11 ± 0,007 *
<b>D1 tireóide</b>	2,89 ± 0,17	4,39 ± 0,26 *
<b>D2 tireóide</b>	1,68 ± 0,11	3,10 ± 0,38 *
<b>GPDm hepática</b>	0,02 ± 0,005	0,04 ± 0,02
<b>Colesterol no leite</b>	422,7 ± 22	158,4 ± 29 *
<b>Triglicerídeos no leite</b>	12960 ± 663	4912 ± 951 *
<b>Proteína no leite</b>	78,61 ± 4,45	80,83 ± 4,01

Tabela 4: Resumo dos resultados dos filhotes aos 180 dias.

	<b>CONTROLE</b>	<b>DIETA</b>
<b>Ingestão relativa final</b>	0,05 ± 0,0015	0,05 ± 0,0008
<b>Peso corporal final</b>	421 ± 7,6	406 ± 9,2
<b>Albumina sérica</b>	3,17 ± 0,17	3,05 ± 0,10
<b>TAV</b>	5,02 ± 0,3	6,02 ± 0,5
<b>Gordura corporal</b>	11,4 ± 1,2	16,5 ± 1,9 *
<b>Proteína corporal</b>	25,9 ± 0,5	25,4 ± 1,2
<b>Água corporal</b>	62,5 ± 2,1	60,9 ± 3,3
<b>Cinzas corporal</b>	2,98 ± 0,88	2,48 ± 0,61
<b>Colesterol sérico</b>	109,1 ± 7,1	84,75 ± 3,6 *
<b>HDL-c sérico</b>	32,68 ± 3,5	25,43 ± 0,9
<b>LDL-c sérico</b>	57,7 ± 5,2	37,86 ± 3,0 *
<b>Castelli I</b>	3,45 ± 0,22	3,93 ± 0,69
<b>Castelli II</b>	1,81 ± 0,24	1,39 ± 0,21
<b>Triglicerídeo sérico</b>	184 ± 7,5	218,4 ± 11,4 *
<b>Leptina sérica</b>	1,87 ± 0,29	3,63 ± 0,70 *
<b>Corticosterona</b>	216 ± 24,0	113,2 ± 22,3 *
<b>Catecolaminas</b>	180,5 ± 29,6	101,1 ± 15,6 *
<b>TSH</b>	1,038 ± 0,09	1,013 ± 0,11
<b>T3 total</b>	57,58 ± 2,3	52,87 ± 1,97
<b>T4 total</b>	3,13 ± 0,26	4,02 ± 0,21 *
<b>D1 fígado</b>	0,197 ± 0,016	0,103 ± 0,003 *
<b>D1 tireóide</b>	2,63 ± 0,162	6,02 ± 0,317 *
<b>D2 tireóide</b>	7,65 ± 0,28	7,08 ± 0,33
<b>GPDm hepática</b>	0,02 ± 0,002	0,02 ± 0,004

## 5 - DISCUSSÃO

O modelo do presente estudo reproduz, em animais, uma restrição energética induzida pelo aumento da ingestão de lipídeos na lactação, o que pode servir para avaliar as possíveis conseqüências deste tipo de dieta em mulheres lactantes que tenham por objetivo uma perda rápida de peso ou que estejam ingerindo uma proporção grande de alimentos ricos em gordura *trans*.

Na literatura, encontramos vários modelos de dietas hiperlipídicas em que o aumento do conteúdo de gordura é compensado por uma redução apenas no teor de carboidratos (Buckley *et al.*, 2005; Jen, 1988), ou nos teores de carboidratos e de proteínas (Kamgang *et al.*, 2005; Ainslie *et al.*, 2000; Aoyama *et al.*, 2000). A dieta utilizada neste estudo foi baseada no trabalho de Aoyama *et al.*, (2000), em que o aumento do teor de lipídeos é de quase 3 vezes a recomendação da AIN-93 (Reeves, 1997).

Os diferentes modelos de dietas hiperlipídicas em ratos adultos mostram resultados semelhantes com relação a alguns parâmetros: aumento de peso corporal (Borst & Conover, 2005; Kamgang *et al.*, 2005; Ainslie *et al.*, 2000; Akiyama *et al.*, 1996), de percentual de gordura corporal (Aoyama *et al.*, 2000; Jen, 1988), de TAV (Borst & Conover, 2005; Ainslie *et al.*, 2000), de triglicerídeos séricos (Kamgang *et al.*, 2005; Aoyama *et al.*, 2000; Akiyama *et al.*, 1996), de colesterol sérico (Kamgang *et al.*, 2005; Akiyama *et al.*, 1996), e das frações HDL-c e LDL-c (Kamgang *et al.*, 2005).

Estudos recentes em seres humanos mostram maior perda de peso com dietas de baixo teor de carboidrato e alto teor de lipídeos, comparadas àquelas com baixo teor de lipídeos (Brehn *et al.*, 2003; Foster *et al.*, 2003; Samaha *et al.*, 2003). Mais ainda, alguns estudos mostram perda preferencial de gordura e preservação da massa magra (Meckling *et al.*, 2002; Volek *et al.*, 2002; Young *et al.*, 1971) e até perda de gordura regionalizada (Volek *et al.*, 2004). No trabalho de Volek *et al.* (2004), foram usadas duas dietas hipocalóricas e isoenergéticas, uma com restrição de lipídeos (25% do valor energético total) e outra com restrição de carboidrato (10% do valor energético total) e alto teor de lipídeos (60% do valor energético total), ressaltando que houve alteração nos percentuais calóricos dos três macronutrientes. Estes autores observaram maior perda de gordura na região do tronco com o uso da segunda dieta e sugerem a mediação por parte de alguns hormônios como insulina, leptina ou cortisol, mas não sabem explicar os mecanismos responsáveis por este achado. O argumento utilizado por esses autores é que a perda de

peso corporal nas dietas com alto teor de lipídeos resulta da redução espontânea da ingestão energética (Bray, 2003). A base fisiológica é a de que o aumento dos níveis de corpos cetônicos, principalmente de  $\beta$ -hidroxibutirato, inibe diretamente o apetite (Arase *et al.*, 1988).

A importância do carboidrato na alimentação readquiriu seu espaço, e hoje, a restrição agressiva de carboidratos não é mais bem vista. Alguns trabalhos contradizem os estudos anteriormente citados, mostrando que não há perda de peso mais rápida nem perda preferencial de gordura com dietas de alto teor lipídico (Vasquez & Adibi, 1992).

Mas ainda existem pesquisadores e clínicos que defendem o aumento da proporção do lipídeo na dieta, apesar dos resultados contraditórios na literatura. Mesmo que os teores de carboidratos não sejam mais restritos, o efeito do excesso de lipídeos pode ser deletério; aumentando o risco para doenças cardiovasculares (Hegele, 1996; Thomas & Rudel, 1996; Corti *et al.*, 1995; Dimmitt, 1995; Maher *et al.*, 1995; Sacks, 1995), resistência insulínica (Lovejoy & DiGirolamo, 1992) e *diabetes mellitus* (Marshall *et al.*, 1994; Vessby *et al.*, 1994).

### **Efeitos da dieta hiperlipídica rica em AG *trans* na lactação**

A redução da ingestão de ração pelas nossas ratas lactantes, observada também em outros estudos semelhantes (Aoyama *et al.*, 2000; Guo & Jen, 1995), pode ser explicada pela propriedade de saciedade do lipídeo (Lermer & Mattes, 1999) ou dos corpos cetônicos (Arase *et al.*, 1988) e pelo fato de que dietas hiperlipídicas estimulam a liberação de CCK, que diminui o consumo alimentar voluntário (Laquatra, 2002; Akiyama *et al.*, 1996; Baile *et al.*, 1986), e de peptídeo YY (PYY), que aumenta a saciedade (Essah *et al.*, 2007). A hiperleptinemia observada nestas ratas lactantes também poderia inibir o apetite através de sua ação hipotalâmica (Martin *et al.*, 1998). Em seres humanos, dietas ricas em lipídeos também proporcionam aumento significativo da leptinemia, comparadas às dietas pobres em lipídeos, existindo forte correlação entre leptina e porcentagem de consumo de lipídeos (Cooling & Blundell, 1998).

Além de terem consumido menor quantidade de ração, as ratas do grupo dieta também apresentaram menor ingestão energética, pois, mesmo tendo recebido uma ração hipercalórica em relação à ração controle, isto não foi suficiente para compensar a menor quantidade ingerida.

Apesar de Aoyama *et al.* (2000) terem estudado esta dieta em ratos machos adultos, devemos ressaltar que a lactação é um período crítico, onde diversas alterações morfológicas e funcionais ocorrem com o objetivo de garantir a saúde do neonato, portanto, respostas diferentes daquelas de um animal adulto podem ser esperadas.

Em estudos com seres humanos, observou-se que certos indivíduos que utilizam dietas ricas em lipídeos, apresentam peso normal ou baixo, sugerindo que, possivelmente, o excesso de lipídeos ingerido possa estar em equilíbrio com a quantidade consumida pelo organismo. Esta proteção pode ser explicada através de mecanismos fisiológicos, como taxa metabólica ou oxidação de lipídeos aumentados (Cooling & Blundell, 1998; Proserpi *et al.*, 1997).

A dieta hiperlipídica promoveu um balanço energético negativo, e as ratas apresentaram maior perda de peso ao final da lactação, com sinal de desnutrição protéica, evidenciada pela hipoalbuminemia. Entretanto, o conteúdo de proteína da carcaça, marcador de proteína muscular, não sofreu alterações, significando haver mecanismos compensatórios que garantem a preservação da musculatura, para este grau e duração da dieta.

Mesmo com maior perda de peso, as ratas lactantes submetidas à dieta hiperlipídica apresentaram maior conteúdo de TAV e de gordura na carcaça, o que era esperado, pois sabe-se que a maioria dos depósitos de gordura corporais vem diretamente dos triglicérides da dieta (Laquatra, 2002) e já foi observado que após refeição rica em lipídeos, ocorre depressão da lipólise e aumento dos estoques de lipídeos corporais (Raben & Astrup, 2000). Provavelmente, este excesso de tecido adiposo das ratas lactantes do grupo dieta seria o responsável pelas altas concentrações séricas de leptina, já que o tecido adiposo é o principal local de síntese (Friedman & Halaas, 1998). Acreditamos que o efeito periférico lipolítico da leptina não ocorra neste modelo, sugerindo uma resistência à sua ação, visto o incremento de gordura corporal observado. Porém, o efeito central parece estar preservado, ao contrário do que foi observado em diversos modelos experimentais de programação, em nosso laboratório, em que a resistência é central, predominantemente, tais como: desnutrição (Passos *et al.*, 2004), administração de leptina na lactação (Toste *et al.*, 2006; Lins *et al.*, 2005; de Oliveira Cravo *et al.*, 2002) e bloqueio da prolactina ao final da lactação (Bonomo *et al.*, 2007).

As ratas do grupo dieta apresentaram redução do teor de água corporal e aumento não-significativo do teor de cinzas. Esta relação inversa entre água corporal e gordura é explicada, em parte, pelo fato da gordura ser um tecido livre de água (Laquatra, 2002).

A hiperlipidemia das ratas lactantes do grupo dieta ao desmame também era esperada, já que estudos em animais (Águila *et al.*, 2002; Baba *et al.*, 1999; Águila *et al.*, 1998) e em seres humanos (Hegele, 1996; Thomas & Rudel, 1996; Corti *et al.*, 1995; Dimmitt, 1995; Maher *et al.*, 1995; Sacks, 1995) mostram aumento de lipídeos séricos em função da manipulação dos lipídeos da dieta.

Apesar do aumento observado nas concentrações de colesterol e de triglicerídeos, não foi observada diferença significativa nas frações HDL-c e LDL-c. Estudos em seres humanos mostram que dietas ricas em AG *trans* afetam negativamente o perfil lipídico, aumentando o LDL-c, reduzindo o HDL-c (Lichtenstein *et al.*, 2003; Grundy *et al.*, 2002; Sundram *et al.*, 1997; Judd *et al.*, 1994; Mensink & Katan, 1990) e aumentando a trigliceridemia (Lichtenstein *et al.*, 2003; Grundy *et al.*, 2002). Entretanto, Gatto *et al.* (2002), oferecendo uma dieta rica em AG *trans* a ratos adultos por 4 semanas, observaram redução da colesterolemia e da fração LDL-c, sem efeito sobre o HDL-c.

Mesmo sem alteração nas frações HDL-c e LDL-c, as ratas do grupo dieta apresentaram maiores índices de Castelli (I e II), mostrando o perfil aterogênico desta dieta hiperlipídica e rica em AG *trans*.

Estas observações mostram que a dieta hiperlipídica, mesmo causando balanço energético negativo, pode prejudicar a saúde em longo prazo, pois além de aumentar o teor de gordura corporal e de TAV, produz alteração nos lipídeos séricos que podem levar à síndrome metabólica e aumentar o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, especialmente numa fase vulnerável como a lactação.

As ratas lactantes do grupo dieta apresentaram maior TSH, apesar de terem T<sub>4</sub> normal. Porém, estas ratas apresentaram, paradoxalmente, aumento de T<sub>3</sub>. Uma possível explicação seria uma produção preferencial de T<sub>3</sub>, pelo aumento do TSH, ou maior desiodação tireóidea do T<sub>4</sub> em T<sub>3</sub>, já que estas ratas apresentaram aumento da atividade D1 e D2 tireóidea, além de maior atividade D1 hepática. Por sua vez, a D1 hepática pode ser estimulada pelos altos níveis de T<sub>3</sub>. O TSH é um conhecido estimulador da D1 tireóidea (Erickson *et al.*, 1982) e, possivelmente da D2. Devemos ressaltar que estas ratas apresentam hiperleptinemia e, já foi mostrado que a leptina estimula a atividade D1 hepática e tireóidea (Lisboa *et al.*, 2003; Cusin *et al.*, 2000,). Além disso, a leptina é um conhecido estimulador do TRH (Ahima *et al.*, 2000; Legradi *et al.*, 1997), do TSH (Ortiga-

Carvalho *et al.*, 2002), e do SNS (Bianco *et al.*, 1998), e já foi descrito que a própria adrenalina estimula a atividade desidase (Bianco *et al.*, 1998). Além da hiperleptinemia e do maior TSH, estas mães também apresentaram maior conteúdo de catecolaminas na adrenal.

Já foi descrito na literatura que refeições ricas em lipídeos aumentam a secreção de PYY (Essah *et al.*, 2007), e também que este hormônio participa da regulação do eixo HHT (Oliveira *et al.*, 2006). Portanto, poderíamos sugerir que o PYY tenha um papel na estimulação da atividade hipofisária das ratas do grupo dieta, levando às maiores concentrações de TSH sérico.

Em estudo de Hartmann *et al.* (1980), ratos jovens que receberam dieta com 50% de lipídeos por 6 a 8 semanas, apresentaram aumento da atividade D1 hepática, o que também foi observado nas ratas lactantes em nosso estudo. Os autores concluíram que a desidodação hepática de  $T_4$  depende do teor de gordura da dieta. O fato do  $T_4$  estar normal apesar do aumento de TSH, justamente, pode se dever a maior desidodação deste hormônio.

Já é bem conhecido que os HTs estimulam o metabolismo reduzindo o peso corporal e estimulando a lipólise (Kelly, 2000). Neste modelo, as ratas lactantes do grupo dieta apresentaram maior perda de peso corporal, mas com aumento de TAV e maior conteúdo de gordura corporal, o que sugere um estado hipometabólico, sugerindo a hipótese de um hipotireoidismo tecidual. Porém, tanto as desidodases, quanto a enzima GPDM apresentaram atividades maiores no grupo dieta e, como são enzimas dependentes de HTs (Lee & Lardy, 1965), o mais provável é que o aumento da massa adiposa, neste modelo, nada tenha a ver com o estado funcional tireóideo.

Ratas submetidas à RP na lactação também mostraram maiores concentrações de  $T_3$  sérico, mas apresentaram menor concentrações séricas de  $T_4$  (Ramos *et al.*, 2000). Os autores sugerem que a alteração do metabolismo de iodo, que leva à diminuição na produção de  $T_4$ , é compensada pela produção preferencial de  $T_3$ , constituindo importante mecanismo adaptativo na lactação. Também neste modelo as mães apresentaram importante alteração na atividade desidase da glândula mamária (Lisboa *et al.*, 2003) com maior passagem de  $T_3$  pelo leite (Passos *et al.*, 2001b), assim como de iodo (Passos *et al.*, 2001a). Tais alterações foram relacionadas a maior leptinemia materna na lactação (Lisboa *et al.*, 2006). Em outro modelo, em que se suprime a produção de prolactina ao final da lactação, Bonomo *et al.* (2005) também encontraram aumento da leptina materna e maior transferência desta pelo leite.

As ratas do grupo dieta apresentaram menor concentração sérica de corticosterona aos 21 dias, mostrando uma relação inversamente proporcional com a leptina, já descrita na literatura (Oates *et al.*, 2000). Várias evidências mostram que a leptina afeta diretamente a atividade do eixo HHA, modificando a secreção de ACTH (Raber *et al.*, 1997) e inibindo a liberação de glicocorticóides nas adrenais (Bornstein *et al.*, 1997).

Como já foi descrito anteriormente, não há necessidade de aumento dos níveis de glicocorticóides para diferenciação de adipócitos na região abdominal. A interconversão tecidual pela enzima 11- $\beta$ -HSD-1 pode ser a responsável pelo maior depósito de TAV nas ratas, mesmo com baixas concentrações séricas de corticosterona (Valsamakis *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2003; Rask *et al.*, 2002; Livingstone *et al.*, 2000). E esse acúmulo de TAV, por sua vez, seria responsável pela maior expressão da enzima.

A ativação dos receptores de glicocorticóides nos adipócitos aumenta a expressão da LPL, que determina o estoque de triglicerídeos. Os adipócitos viscerais expressam grande número de receptores para glicocorticóides e mostram o esperado aumento da resposta da LPL ao glicocorticoide (Montague & O`Rahilly, 2000).

As ratas lactantes apresentaram dois parâmetros definidores da síndrome metabólica (Haffner & Taegtmeyer, 2003): maior gordura abdominal e hipertrigliceridemia. O maior conteúdo adrenal de catecolaminas poderia contribuir para um aumento de pressão arterial, outro determinante no desenvolvimento da síndrome metabólica. Entretanto, para resultados mais conclusivos seria necessário avaliar a secreção destas catecolaminas pela glândula adrenal além da monitorização dos níveis pressóricos.

Um resultado intrigante foi o fato de ratas lactantes com alto conteúdo de gordura corporal e hiperlipidemia terem produzido um leite “magro”, com menores teores de colesterol e triglicerídeos, ao final da lactação e, pelo contrário, ratas RP e RC produzem um leite com maior concentração de gordura (Passos *et al.*, 2000).

Já é descrito na literatura que alterações catabólicas ocorrem no tecido adiposo no final da gestação com aumento da atividade da lipase hormônio-sensível (HSL) e redução da atividade da LPL, resultando em aumento de lipídeos séricos, tanto nas mulheres como nas ratas, principalmente o aumento das lipoproteínas ricas em triglicerídeos (quilomícrons e VLDL). A redução da atividade da LPL no adipócito ao fim da gestação permite que o triglicerídeo sérico seja desviado dos estoques no tecido adiposo para outros tecidos, como glândulas mamárias, onde há indução da expressão e atividade da

LPL, permitindo a subsequente hidrólise e captação dos triglicerídeos circulantes para preparação para a lactação (Martín-Hidalgo *et al.*, 2005; Jensen *et al.*, 1994).

Entretanto, como as ratas lactantes tinham um conteúdo de gordura corporal 1,5 vez maior que o grupo controle, sugerimos que o tecido adiposo não foi mobilizado através da lipólise. Uma possível explicação para isto é o fato de que estas ratas apresentaram menor concentração sérica de corticosterona, o que estaria inibindo o catabolismo lipídico.

Além do aumento da captação de triglicerídeos LPL-dependente a partir de lipoproteínas, na lactação as células epiteliais mamárias sintetizam triglicerídeo a partir dos ácidos graxos obtidos do sangue e da síntese a partir da glicose (Martín-Hidalgo *et al.*, 2005). Esta síntese endógena de triglicerídeo, e também de colesterol, na glândula mamária, pode ter sido suprimida pela hiperlipidemia causada pela dieta hiperlipídica. Já foi observado anteriormente que quando o colesterol sérico encontra-se aumentado, ocorre redução da expressão dos receptores para LDL, diminuindo a produção endógena (Goldstein *et al.*, 1985).

Outra explicação seria uma alteração do metabolismo lipídico materno levando à menor síntese de lipídeos na glândula mamária, o que já foi observado por Assumpção *et al.* (2002) ao fornecer dieta rica em AG *trans* à ratas lactantes.

Em estudos antigos, os autores manipularam a dieta de ratas lactantes com o objetivo de aumentar a concentração de colesterol no leite e relatam dados contraditórios entre a colesterolemia nos filhotes que estava diretamente (Kris-Etherton *et al.*, 1979) ou inversamente (Reiser & Sidelman, 1972) relacionada a concentração no leite. Em seres humanos, a quantidade de colesterol no leite não parece ser influenciada pela dieta da mãe; entretanto o conteúdo de colesterol no leite é reduzido conforme progride a lactação (Fagen, 2002).

### **Programação pela dieta hiperlipídica rica em AG *trans* na lactação**

Os filhotes das lactantes do grupo dieta apresentaram menor ganho de peso corporal a partir do dia 16 da lactação, chegando a uma diferença de 19% do grupo controle aos 21 dias. Após o desmame, os filhotes do grupo dieta, mesmo já alimentados com ração normal, continuaram com menor peso corporal até os 97 dias de idade. A partir desta data, não houve diferença de peso entre os dois grupos. Como não foi encontrada diferença na albumina sérica aos 180 dias, podemos confirmar o adequado estado

nutricional destes filhotes. Filhotes adultos do grupo RP, após dieta normal desde o desmame, continuaram com menor peso corporal (Passos *et al.*, 2000).

Podemos sugerir algumas explicações para o menor ganho de peso dos filhotes do grupo dieta durante a lactação. A primeira seria a produção de um leite “magro” pelas ratas lactantes, com menores concentrações de colesterol e triglicérides. A outra possibilidade seria uma ação do hipertireoidismo materno, acelerando o processo de apoptose das glândulas mamárias (Varas *et al.*, 2002). E, como as mães são hiperleptinêmicas, se a transferência de leptina pelo leite for maior, como já observado em outro modelo experimental de programação (Bonomo *et al.*, 2005), pode causar saciedade na prole.

Aos 180 dias, os animais do grupo dieta apresentaram um aumento de aproximadamente 20% no TAV e a composição corporal exibiu padrão semelhante ao das mães; ou seja, maior conteúdo de gordura corporal. Coerentemente, estes animais apresentaram hiperleptinemia. Assim, sugerimos que o maior percentual de gordura corporal dos filhotes do grupo dieta tenha sido responsável pela hiperleptinemia. Porém, a ingestão normal no grupo dieta sugere uma resistência à ação central da leptina.

Em estudo semelhante ao nosso, Buckley *et al.* (2005) alimentaram ratas gestantes com dieta hiperlipídica à base de ácido graxo  $\omega$ -6, para investigar a programação do metabolismo de glicose na prole adulta. Aos 3 meses de idade, esses filhotes apresentavam peso igual ao grupo controle, entretanto com maior percentual de gordura corporal e maior conteúdo de TAV. Devemos ressaltar que os dados obtidos para percentual de gordura corporal foram bem semelhantes entre o nosso estudo (controle=  $11,38 \pm 1,2$ ; dieta=  $16,51 \pm 1,9$ ;  $p < 0,05$ ) e o de Buckley *et al.* (2005) (controle=  $13,6 \pm 0,6$ ; dieta=  $15,9 \pm 0,6$ ;  $p < 0,01$ ), mesmo este último tendo sido avaliado através de outro método, absorciometria de raios-x de dupla energia (DEXA).

Existem poucos estudos sobre o efeito dos AG, principalmente AG *trans*, durante os períodos de crescimento e desenvolvimento, no metabolismo lipídico da prole. Pisani *et al.* (2008) observaram aumento da trigliceridemia e colesterolemia de ratos aos 21 dias cujas mães receberam dieta rica em AG *trans* por toda a gestação e lactação. Silva *et al.* (2006) ofereceram dieta rica em AG *trans* a ratos desmamados cujas mães já haviam recebido esta dieta, e observaram aumento da colesterolemia, da trigliceridemia e redução do HDL-c aos 45 dias.

Também observamos que as concentrações séricas de triglicérides nos animais do grupo dieta foram maiores aos 180 dias. Entretanto, ao contrário das mães,

apresentaram menor colesterolemia total e das frações, sendo a redução de LDL-c significativa, e índices de Castelli normais. Em estudo semelhante, Kris-Etherton *et al.* (1979) manipularam a dieta a partir da gestação e durante a lactação, e observaram que o aumento da concentração de colesterol no leite das ratas estava diretamente relacionado à colesterolemia dos filhotes.

A presença de gordura abdominal somada a hipertrigliceridemia pode ser considerada como determinante no desenvolvimento da síndrome metabólica. Esta pode ser caracterizada por um conjunto de sintomas, incluindo hipertensão arterial, resistência insulínica, *diabetes mellitus* tipo 2 e dislipidemia (Haffner & Taegtmeyer, 2003).

A função tireóidea dos animais aos 180 dias apresentou padrão diferente do observado nas ratas lactantes; caracterizado, apenas pelo aumento de  $T_4$  total, com TSH e  $T_3$  total normais. É possível que a hipertiroxinemia seja devido, apenas, a maior concentração de proteína carreadora de tiroxina (transtiretina - TTR). Outra possibilidade é a diminuição no metabolismo de  $T_4$ . A desiodação do  $T_4$  a hormônio ativo pode não estar ocorrendo normalmente, visto que a atividade da D1 hepática encontra-se menor. Ao contrário, Dutra *et al.* (2003) constataram que filhotes de ratas RP programaram aumento sérico de  $T_3$  e de  $T_4$ , além de maior atividade da D1 hepática. A maior atividade da D1 tireoidiana no grupo dieta pode ser explicada pela hiperleptinemia.

Para que ocorra perfeita desiodação do  $T_4$ , o fígado deve estar saudável. Qualquer alteração neste órgão pode comprometer o metabolismo periférico dos HT (Kelly, 2000). Neste modelo, o  $T_4$  pode não ter sido desiodado por alteração hepática, dado que visivelmente, o fígado destes animais tinha aspecto mais gorduroso que o dos animais controle. Outros estudos com dieta hiperlipídica mostraram aumento do conteúdo de triglicérido hepático (Buckley *et al.*, 2005; Chalkley *et al.*, 2002; Koukkou *et al.*, 1998).

Estes animais não apresentaram alterações da atividade GPDm hepática, o que não corrobora com a maior concentração de  $T_4$  sérico. Publicação recente do grupo (Oliveira *et al.*, 2007) mostra inibição da GPDm pela leptina. De qualquer forma, a D1 hepática que é uma enzima dependente de HT e é estimulada pela leptina (Lisboa *et al.*, 2003, Cusin *et al.*, 2000), encontra-se menor, sugerindo que este maior  $T_4$  é consequência e não causa da atividade D1, ou possa não ser funcional.

Em roedores, o período neonatal constitui um importante período de programação do eixo HHA, durante o qual eventos estressantes podem ter consequências duradouras na idade adulta (Ladd *et al.*, 1996).

Estudos anteriores mostram que durante o desenvolvimento, o teor de lipídeos no leite pode elevar os níveis de leptina nos filhotes lactentes e reduzir a magnitude da sua resposta ao estresse (Trottier *et al.*, 1998), sugerindo um efeito da leptina na atividade do eixo HHA durante o desenvolvimento. Em estudo de Oates *et al.* (2000), a injeção de leptina na prole no início da lactação produziu perda de peso e redução dos depósitos de gordura. Eles sugerem que isso ocorreu provavelmente por menor volume de leite ingerido ou por aumento no gasto energético. Também em nossos estudos de administração de leptina na lactação, encontramos menor massa de tecido adiposo e aumento da proteína na carcaça na vida adulta (Toste *et al.*, 2006a). Estas alterações estão associadas a resistência a leptina, que pode apresentar dissociação entre seu efeito central e periférico (Dutra *et al.*, 2007; Trevenzoli *et al.*, 2007; Toste *et al.*, 2006b).

No presente estudo, apesar do leite ter tido menor conteúdo de colesterol e triglicérides, os filhotes tiveram um aumento de leptina sérica na idade adulta, sugerindo uma programação por algum outro componente lipídico, como ácidos graxos livres. Essa hiperleptinemia provavelmente atuou no período de desenvolvimento, modulando o eixo HHA e inibindo a secreção de corticosterona pela adrenal.

Podemos sugerir que, como a mãe do grupo dieta é hiperleptinêmica, provavelmente a passagem deste hormônio pelo leite (Trottier *et al.*, 1998) programa a hiperleptinemia nos filhotes na idade adulta. Lins *et al.* (2005) injetaram leptina nas ratas lactantes nos três últimos dias de lactação, e observaram maior peso corporal, maior ingestão alimentar, maior conteúdo de TAV e hiperleptinemia nos filhotes na idade adulta. Também, nesta programação houve uma resistência ao efeito anorexigênico da leptina.

Os baixos níveis séricos de corticosterona e no conteúdo de catecolaminas na medula adrenal, hormônios conhecidamente catabólicos, podem ter sido responsáveis pela inibição da lipólise nestes animais, levando a um conteúdo aumentado de gordura corporal.

Pode-se dizer que neste modelo produzimos um “falso emagrecimento” nas ratas lactantes, onde se observa perda de peso corporal, entretanto com maior percentual de gordura corporal, e hipertrigliceridemia. Estas duas últimas alterações são observadas nos filhotes adultos, após a introdução da dieta padrão, sendo responsável por programação metabólica, compatível com síndrome metabólica.

## 6- CONCLUSÕES

A dieta hiperlipídica rica em AG *trans* produziu alterações importantes na fisiologia materna: perda ponderal com aumento da proporção de gordura corporal, hiperleptinemia, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia. Apesar disso, o leite apresentou menores concentrações de triglicédeos e colesterol. Estas ratas apresentaram menor corticosteronemia e maior conteúdo de catecolaminas na adrenal, alterações que podem ser explicadas pela hiperleptinemia.

As ratas submetidas à dieta hiperlipídica apresentaram ainda importantes alterações da função tireóidea, com aumento de TSH e T<sub>3</sub> séricos. O TSH elevado e a hiperleptinemia podem ser os responsáveis pelo aumento das atividades desiodases (tipo 1 e 2) tireóideas. O T<sub>3</sub> elevado, a hiperleptinemia e as catecolaminas elevadas podem estar associados ao aumento da atividade da D1 hepática. O aumento da atividade das desiodases explica o aumento do T<sub>3</sub> sérico e a manutenção das concentrações séricas de T<sub>4</sub>. Leptina e adrenalina elevada podem também desempenhar um papel no aumento do TSH sérico.

As alterações na composição do leite podem imprimir na fase de lactação a programação de diversas alterações fisiológicas na prole de ratas em dieta hiperlipídica, tais como: maior proporção de gordura corporal, hipertrigliceridemia, hiperleptinemia, hipocorticosteronemia e menor conteúdo de catecolaminas na medula adrenal e hipertiroxinemia. A hipertiroxinemia pode estar associada a uma menor desiodação hepática deste hormônio, apesar do aumento da D1 tireóidea.

Em resumo, dieta hiperlipídica rica em AG *trans* na lactação, além de produzir alterações deletérias na mãe, programa para alguns dos componentes da síndrome metabólica na prole adulta.

## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Águila MB, Loureiro CC, Pinheiro AR, Mandarim-de-Lacerda CA. Lipid metabolism in rats fed diets containing different types of lipids. *Arq Bras Cardiol*, v.78, n.1, p.32-38, 2002.

Águila MB, Rodrigues-Apfel MI, Mandarim-de-Lacerda CA. Stereology of the myocardium and blood biochemistry in aged rats fed with a cholesterol-rich and canola oil diet (n-3 fatty acid rich). *Basic Res Cardiol*, v.93, p.182-191, 1998.

Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab*, v.11, p.327-332, 2000.

Ainslie DA, Proietto J, Fam BC, Thorburn AW. Short-term, high-fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. *Am J Clin Nutr*, v.71, p.438-442, 2000.

Akiyama T, Tachibana I, Shirohara H, Watanabe N, Otsuki M. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diab Res Clin Prac*, v.31, p.27-35, 1996.

Aoyama T, Fukui K, Takamatsu K, Hashimoto Y, Yamamoto T. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK). *Nutrition*, v.16, p.349-354, 2000.

Arase K, Fisler JS, Shargill NS, York DA, Bray GA. Intracerebroventricular infusions of 3-OHB and insulin in a rat model of dietary obesity. *Am J Physiol*, v.255, p.R974-R981, 1988.

Assumpção RP, Santos FD, Andrade PMM, Barreto GF, Tavares do Carmo MG. Effect of variation of *trans*-fatty acid in lactating rats` diet on lipoprotein lipase activity in mammary gland, liver and adipose tissue. *Nutrition*, v.20, p.806-811, 2004.

Assumpção RP, Santos FD, Setta CL, Barreto GF, Matta IE, Estadella D, Azeredo VB, Tavares do Carmo MG. Trans fatty acids in maternal diet may impair lipid biosynthesis in mammary gland of lactating rats. *Ann Nutr Metab*, v.46, n.5, p.169-175, 2002.

Baba NH, Antoniadis K, Habbal Z. Effects of dietary canola, olive, and linolenic acid enriched olive oils on plasma lipids, lipid peroxidation and lipoprotein lipase activity in rats. *Nutr Res*, v.19, p. 601-612, 1999.

Baile CA, McLaughlin CL, Della-Fera MA. Role of cholecystokinin and opioid peptides in control of food intake. *Physiol Rev*, v.66, n.1, p.172-234, 1986.

Barker DJ, Lackland DT. Prenatal influences on stroke mortality in England and Wales. *Stroke*, v.34, n.7, p.1598-1602, 2003.

Barker DJ. Mothers, Babies and Health in later life. 2<sup>nd</sup> ed. London Churchill Livingstone, 1998.

Barker D.J. The fetal and infant origins of disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, v.25, p.457-463, 1995.

Barker DJP, Hales CN, Fall CHD, Osmond C, Phipps K, Clark PMS. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*, v.36, p.62-67, 1993.

Barker DJ. The fetal origins of diseases of old age. *Eur J Clin Nutr*, v.46, p.3S-9S, 1992.

Batista Filho M, Rissin A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. *Cad Saúde Pública*, v.19, p.S181-S191, 2003.

Bentley-Lewis R, Koruda K, Seely EW. The metabolic syndrome in women. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, v. 3, n.10, p.696-704, 2007.

Bermudez OI, Tucker KL. Trends in dietary patterns of Latin American populations. *Cad Saúde Pública*, v.19, n.1, p.S87-S99, 2003.

Bianco AC, Kimura ET. Fisiologia da glândula tiróide. In: Aires, MM. Fisiologia. 2 ed. Guanabara Koogan. p.812-828. 1999

Bianco AC, Carvalho SD, Carvalho CRF, Rabelo R, Moriscot AS. Thyroxine 5`-deiodination mediates norepinephrine-induced lipogenesis in dispersed brown adipocytes. *Endocrinology*, v.139, n.2, p.571-578, 1998.

Björntrop P, Rosmond R . Obesity and cortisol. *Nutrition*, v.16, p.924-936, 2000.

Bode HH, Vanjonack WJ, Crawford JD. Mitigation of criticism by breast-feeding. *Pediatrics*, v.62, p.13-15, 1978.

Bonomo IT, Lisboa PC, Passos MC, Pazos-Moura CC, Reis AM, Moura EG. Prolactin inhibition in lactating rats changes leptin transfer trough the milk. *Horm Metab Res*, v.37, n.4, p.220-225, 2005.

Bonomo IT, Lisboa PC, Pereira AR, Passos MC, Moura EG. Prolactin inhibition in dams during lactation programs for overweight and leptin resistance in adult offspring. *J Endocrinol*, v.192, n.2, p.339-344, 2007.

Bornstein SR, Uhlmann K, Haidan A, Ehrhart-Bornstein M, Scherbaum WA. Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland: leptin inhibits cortisol release directly. *Diabetes*, v.46, n.7, p.1235-1238, 1997.

Borst SE, Conover CF. High-fat diet induces increased tissue expression of TNF- $\alpha$ . *Life Sciences*, v.77, p.2156-2165, 2005.

Bray GA. Obesity: a disease of nutrient or energy balance? *Nutr Rev*, v.45, n.2, p.33-43, 1987.

Bray GA. Low-carbohydrate diets and realities of weight loss. *JAMA*, v.289, p.1853-1855, 2003.

Brehn BJ, Seeley RJ, Daniels SR, D'Alessio DA. A randomized trial comparing a very low carbohydrate diet and a calorie-restricted low fat diet on body weight and cardiovascular risk factors in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab*, v.88, p.1617-1623, 2003.

Brito PD, Ramos CF, Passos MC, Moura EG. Adaptive changes in thyroid function of female rats fed a high-fat and low-protein diet during gestation and lactation. *Braz J Med Biol Res*, v.39, n.6, p.809-816, 2006.

Brown KH, Akhtar NA, Robertson AD, Ahmed MD. Lactational capacity of marginally nourished mothers: relationships between maternal nutritional status and quantity and proximate composition of milk. *Pediatrics*, v.78, p.909-919, 1986.

Brown LJ, Koza RA, Everett C, Reitman ML, Marshall L, Fahien LA, Kozak LP, MacDonald MJ. Normal thyroid thermogenesis but reduced viability and adiposity in mice lacking the mitochondrial glycerol phosphate dehydrogenase. *J Biol Chem*, v.277, n.36, p.32892-32898, 2002.

Buckley AJ, Keseru B, Briody J, Thompson M, Ozanne SE, Thompson CH. Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. *Metabolism Clinical and Experimental*, v.54, p.500-507, 2005.

Chalkley SM, Hettiarachchi M, Chisholm DJ. Long-term high-fat feeding leads to severe insulin resistance but not diabetes in Wistar rats. *Am J Physiol*, v.282, p.E1231-1238, 2002.

Chatgililoglu C, Ferreri C. Trans lipids: the free radical path. *Accounts of Chemical Research*. v.38, n.6, p.441-448, 2005.

Coates PM, Brown SA, Sonawane BR, Koldovsky O. Effect of early nutrition on serum cholesterol levels in adult rats challenged with high fat diet. *J Nutr*, v.113, p.1046-1073, 1983.

Comizio R, Pietrobelli A, Tan YX, Wang Z, Withers RT, Heymsfield SB, Boozer CN. Total body lipid and triglyceride response to energy deficit: relevance to body composition models. *Am J Physiol*, v.274, n.37, p.E860-E866, 1998.

Cooling J, Blundell J. Differences in energy expenditure and substrate oxidation between habitual high fat and low fat consumers. *International Journal of Obesity*, v.22, n.7, p.612-618, 1998.

Corti MC, Guralnik JM, Salive ME et al. HDL cholesterol predicts coronary heart disease mortality in older persons. *JAMA*, v.274, p.539-544, 1995.

Coward WA, Paul AA, Prentice AM. The impact of malnutrition on human lactation: observations from community studies. *Federation Proc*, v.43, p.2432-2437, 1984.

Cryer A, Jones HM. The development of white adipose tissue. Effect of litter size on the lipoprotein lipase activity of four adipose-tissue depots, serum immunoreactive insulin and tissue cellularity during the first year of life in male and female rats. *Biochem J*, v.186, p.805-815, 1980.

Crnic LS, Chase HP. Models of infantile malnutrition in rats: effects on milk. *J Nutr*, v.108, p.1755-1760, 1978.

Csaba G. Hormonal imprinting: its role during the evolution and development of hormones and receptors. *Cell Biology International*, v.24, n.7, p.407-414, 2000.

Csaba G. Phylogeny and ontogeny of hormone receptors: origin and development of hormone receptors. *Int Rev Cytol*, v.155, p.1-48, 1994.

Cunha J, Costa THM, Ito MK. Influences of maternal dietary intake and suckling on breast milk lipid and fatty acid composition in low-income women from Brasilia, Brazil. *Early Human Development*, v.81, p.303-311, 2005.

Cusin I, Rouru J, Visser T, Burger AG, Rohner-Jeanrenaud F. Involvement of thyroid hormones in the effect of intracerebroventricular leptin infusion on uncoupling protein-3 expression in rat muscle. *Diabetes*, v.49, n.7, p.1101-1105, 2000.

Dahl LK. Salt and hypertension. *Am J Clin Nutr*, v.25, p.231-244, 1972.

De Oliveira Cravo C, Teixeira CV, Passos MC, Dutra SC, Moura EG, Ramos C. Leptin treatment during the neonatal period is associated with higher food intake and adult body weight in rats. *Horm Metab Res*, v.34, n.7, p.400-405, 2002.

Desai M, Crowther N, Ozanne SE, Lucas A, Hales CN. Adult glucose and lipid metabolism may be programmed during fetal life. *Biochem Soc Trans*, v. 23, p.331-335, 1995.

Dimmitt SB. Recent insights into dietary fat and cardiovascular disease. *Clin Exp Pharm Physiol*, v.22, p.204-208, 1995.

Dusdieker D, Hemingway DL, Stumbo PJ. Is milk production impaired by dieting during lactation? *Am J Clin Nutr*, v.59, p.833-840, 1994.

Dutra SC, Moura EG, Rodrigues AL, Lisboa PC, Bonomo IT, Toste FP, Passos MC. Cold exposure restores the decrease in leptin receptors (Ob-Rb) caused by neonatal leptin treatment in 30-day-old rats. *J Endocrinol*, v.195, n.2, p.351-358, 2007.

Dutra SC, Passos MC, Lisboa PC, Santos RS, Cabanelas AP, Pazos-Moura CC, Moura EG. Liver deiodinase activity is increased in adult rats whose mothers were submitted to malnutrition during lactation. *Horm Metab Res*, v.35, n.4, p.268-270, 2003.

Erickson VJ, Cavalieri RR, and Rosenberg LL. Thyroxine-5-deiodinase of rat thyroid, but not that of liver, is dependent on thyrotropin. *Endocrinology*, v.111, p.434-440, 1982.

Essah PA, Levy JR, Sistrun SN, Kelly SM, Nestler JE. Effect of macronutrient composition on postprandial peptide YY levels. *J Clin Endocrinol Metab*, v.92, n.10, p.4052-4055, 2007.

Fagen C. Nutrição Durante a gravidez e lactação. In: Mahan LK, Escott-Stump S. Krause – Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 10 ed. São Paulo: Roca. p 159-186. 2002

Fagundes AT, Moura EG, Passos MCF, Oliveira E, Toste FP, Bonomo IT, Trevenzoli IH, Garcia RMG, Lisboa PC. Maternal low-protein diet during lactation programmes body composition and glucose homeostasis in the adult rat offspring. *Br J Nutr*, v.98, n.5, p.922-928, 2007.

Faust IM, Johnson PR, Hirsch J. Long-term effects of early nutritional experience on the development of obesity in the rat. *J Nutr*, v.110, p.2027-2034, 1980.

Fellows WD, Rasmussen KM. Comparison of methods for obtaining milk samples from well-nourished and malnourished rats. *Physiol Behav*, v.33, n.5, p.761-763, 1984.

Festa A, Dàgostino Jr R, Williams K, Karter AJ, Mayer-Davis EJ, Tracy RP, Haffner SM. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int Obes Relat Metab Disord*, v.25, p.1407-1415, 2001.

Fishbeck KL, Rasmussen KM. Effect of repeated cycles on maternal nutritional status, lactational performance and litter growth in ad libitum-fed and chronically food-restricted rats. *J Nutr*, v.117, p.1967-1975, 1987.

Franco G. Tabela de Composição Química dos Alimentos. 9 ed. Atheneu, 1992. 307p.

Foster GD, Wyatt HR, Hill JO, McGuckin BG, Briel C, Mohammed BS, Szapary PO, Rader DJ, Edman JS, Klein S. A randomized trial of a low-carbohydrate diet for obesity. *N Engl J Med*, v.348, p.2082-2090, 2003.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimatio of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, v.8, p.499-502, 1972.

Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, v.395, p.763-770, 1998.

Gatto LM, Lyons MA, Brown AJ, Samman S. *Trans* fatty acids affect lipoprotein metabolism in rats. *J Nutr*, v.132, p.1242-1248, 2002.

Godfrey KM, Barker DJP. Fetal programming and adult health. *Public Health Nutrition*, v.4, n.2B, p.611-624, 2001.

Godfrey KM, Barker DJP. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr*, v.71, n.5, p.1344S-1352S, 2000.

Green MH, Dohner EL, Green JB. Influence of dietary fat and cholesterol on milk lipids and on cholesterol metabolism in the rat. *J Nutr*, v.111, p.276-286. 1981.

Goldberg GR, Prentice AM. Maternal and fetal determinants of adult diseases. *Nutr Rev*, v.52, p.191-200, 1994.

Goldstein JL, Brown MS, Anderson RG, Russell DW, Schneider WJ. Receptor-mediated endocytosis: concepts emerging from the LDL receptor system. *Ann Rev Cell Biol*, v.1, p.1-39, 1985.

Grundey SM, Abate N, Chandalia M. Diet composition and the metabolic syndrome: what is the optimal fat intake? *Am J Med*, v.113(suppl 9B), p.:25S-29, 2002.

Guo F, Jen K-LC. High-fat feeding during pregnancy and lactation affects offspring metabolism in rats. *Physiol Behav*, v.57, p.681-686, 1995.

Haffner S, Taegtmeyer H. Epidemic obesity and the metabolic syndrome. *Circulation*, v.108, p.1541-1545, 2003.

Hales CN, Barker DJP, Clark PMS. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64 years. *BMJ*, v.303, p.1019-1022, 1991.

Hanafy MM, Morsey MRA, Seddick Y, Habib YA, Lozy MEL. Maternal nutrition and lactational performance. *Environmental Child Health*, p.187-191, 1972.

Hartmann K, Weber A, Hartmann N. Liver deiodase activity in rats of different body weight and fat contents following high or low fat diet. Comparison of enzymatic deiodination with T4-clearance rate and thyroid activity in animals. *Endokrinologie*, v.75, n.3, p.357-64, 1980.

Hartmann P, Sherrif J, Kent J. Maternal nutrition and the regulation of milk synthesis. *Proc Nutr Soc*, v.54, p.379-389, 1995.

Hegele RA. The role of lipids in cardiovascular disease: lessons from rare mutations special populations. *Clin Invest Med*, v.19, p.161-170, 1996.

Hennart P, Vis HL. Breast-feeding and post partum amenorrhoea in Central Africa.1. Milk production in rural areas. *J Trop Pediatr*, v.26, p.177-183, 1980.

Houdijk ME, Engelbregt MT, Popp-Snijders C, Delemarre van der Waal HA. Long-term effects of early postnatal food restriction on growth hormone secretion in rats. *JPEN*, v.27, n.4, p.260-267, 2003.

Houseknecht KL, McGuire MK, Portocarrero CP, McGuire MA, Beerman K. Leptin is present in human milk and is related to maternal plasma leptin concentration and adiposity. *Biochem Biophys Res Commun*, v.240, p.:742-747, 1997.

James WPT. Health nutrition: preventing nutrition-related diseases in Europe. Copenhagen:WHO, Regional Office for Europe, European Series, n.24, 1988.

Jansson L, Ivarsson S, Larsson I, Ekman R. Tri-iodothyronine and thyroxine in human milk. *Acta Pediatr Scand*, v.72, p.703-705, 1983.

Jelliffe DB, Jelliffe EFP. The volume and composition of human milk in poorly nourished communities: A review. *Am J Clin Nutr*, v.31, p.492-515, 1978.

Jen KLC. Effects of diet composition on food intake and carcass composition in rats. *Physiol Behav*, v.42, n.6, p.551-556, 1988.

Jensen DR, Gavigan S, Sawicki V, Witsell DL, Eckel RH, Neville MC. Regulation of lipoprotein lipase activity and mRNA in the mammary gland of the lactating mouse. *Biochem J*, v.298, p.321-327, 1994.

Jones AP, Assimon SA, Friedman MI. The effect of diet on food intake and adiposity in rats made obese by gestational undernutrition. *Physiol Behav*, v.37, p.381-386, 1986.

Judd J, Clevidence B, Muesing R, Wittes J, Sunkin M, Podczasy J. Dietary *trans* fatty acids: effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women. *Am J Clin Nutr*, v.59, p.861-868, 1994.

Kamgang R, Mboumi RY, N'dillé GPRM, Yonkeu JN. Cameroon local diet-induced glucose intolerance and dyslipidemia in adult Wistar rat. *Diabetes Research and Clinical Practice*, v.69, p.224-230, 2005.

Kanarek RB, Schoenfeld PM, Morgane PJ. Maternal malnutrition in the rat: Effects on food intake and body weight. *Physiol Behav*, v.38, p.509-515, 1986.

Kannel WB, Cupples LA, Ramaswami R, Stokes J, Kreger BE, Higgins M. Regional obesity and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. *J Clin Epidemiol*, v.44, p.183-190, 1991.

Keen CL, Lönnerdal B, Clegg M, Hurley LS. Developmental changes in composition of rat milk: trace elements, minerals, protein, carbohydrate and fat. *J Nutr*, v.111, p.226-230, 1981.

Kelner KL, Levine RA, Morita K, Pollard HB. A comparison of trihydroxyndole and HPLC/electrochemical methods for catecholamine measurement in adrenal chromaffin cells. *Neurochem Internat*, v.7, p.373-378, 1985.

Kelly G. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review. *Altern Med Rev*, v.5, n.4, p.306-333, 2000.

Koukkou E, Ghosh P, Lowy C. Offspring of normal and diabetic rats fed saturated fat in pregnancy demonstrate vascular dysfunction. *Circulation*, v.98,p.2899-2904, 1998.

Kris-Etherton PM, Layman DK, York PV, Frantz IDJ. The influence of early nutrition on the serum cholesterol of the adult rat. *J Nutr*, v.109, p.1244-1257, 1979.

Ladd CO, Owens MJ, Nemeroff CB. Persistent changes in corticotropin-releasing factor neuronal systems induced by maternal deprivation. *Endocrinology*, v.137, n.4, p.1212-1218, 1996.

Langley-Evans SC, Jackson AA. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Clin Sci*, v.86, p.217-222, 1994.

Laquatra, I. Nutrição no controle do peso. In: Mahan LK, Escott-Stump S. Krause – Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 10 ed. São Paulo: Roca. 2002. p 470-498.

Leblanc J, Dussalt J, Lupien D, Richard D. Effect of diet and exercise on norepinephrine-induced thermogenesis in male and female rats. *J Appl Physiol*, v.52, n.3, p.556-561, 1982.

Lee Y-P, Lardy HA. Influence of thyroid hormones on L-alfa-glicerophosphate dehydrogenases and other dehydrogenases in various organs of the rat. *J Biol Chem*, v. 240, p.1427-1436, 1965.

Legradi G, Emerson CH, Ahima RS, Flier JS, Lechan RM. Leptin prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone mRNA in neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology*, v.138, n.6, p.2569-2576, 1997.

Lerner CM, Mattes RD. Perception of dietary fat: ingestive and metabolic implications. *Progress in Lipid Research*, v.38, p.117-128, 1999.

Leroy P, Dessolin S, Villageois P, Moon BC, Friedman JF, Ailhaud G, Dani C. Expression of ob gene in adipose cells. *J Biol Chem*, v.271, p.2365-2368, 1996.

Leshner AI, Litwin VA, Squibb RL. A simple method for carcass analysis. *Analyt Biochem*, v.9, p.281-282, 1972.

Levin BE. Metabolic imprinting on genetically predisposed neural circuits perpetuates obesity. *Nutr*, v.16, n.10, p.909-915, 2000.

Lichtenstein AH, Erkkila AT, Lamarche B, Schwab US, Jalbert SM, Ausman LM. Influence of hydrogenated fat and butter on CVD risk factors: remnant-like particles, glucose and insulin, blood pressure and C-reactive protein. *Atherosclerosis*, v.171,p.97-107, 2003.

Lins MC, Moura EG, Lisboa PC, Bonomo IT, Passos MC. Effects of maternal leptin treatment during lactation on the body weight and leptin resistance of adult offspring. *Regul Pept*, v.127, n.1/3, p.197-202, 2005.

Lisboa PC, Passos MC, Dutra SP, Bonomo IT, Denolato AT, Reis AM, Moura EG. *Horm Metab Res*, v.38, n.5, p.295-299, 2006.

Lisboa PC, Passos MCF, Dutra SCP, Santos RS, Bonomo IT, Cabanelas AP, Pazos-Moura CC, Moura EG. Increased 5'-iodothyronine deiodinase activity is a maternal adaptive mechanism in response to protein restriction during lactation. *J Endocrinol*, v.177, p.261-267, 2003.

Liu Y, Nakagawa Y, Wang Y, Li R, Li X, Ohzeki T, Friedman TC. Leptin activation of corticosterone production in hepatocytes may contribute to the reversal of obesity and hyperglycemia in leptin-deficient ob/ob mice. *Diabetes*, v.52, n.6, p.1409-1416, 2003.

Livingstone DE, Kenyon CJ, Walker BR. Mechanisms of dysregulation of 11 - hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in obese Zucker rats. *J Endocrinol*, v.167, n.3, p.533-539, 2000.

Lopez-Luna P, Maier I, Herrera E. Carcass and tissue fat content in the pregnant rat. *Biol Neonate*, v.60, p.29-38, 1991.

López-Soldado I, Munilla MA, Herrera E. Long-term consequences of under-nutrition during suckling on glucose tolerance and lipoprotein profile in female and male rats. *Br J Nutr*, v.96, n.6, p.1030-1037, 2006.

Lovejoy J, DiGirolamo M. Habitual dietary intake and insulin sensitivity in lean and obese adults. *Am J Clin Nutr*, v.55, p.1174-1179, 1992.

Lovelady CA, Garner KE, Moreno KL, Williams JP. The effect of weight loss in overweight, lactating women on the growth of their infants. *N Engl J Med*, v.342, n.7, p.449-453, 2000.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, v.193, p.265-275, 1951.

Lucas A. Programming not metabolic imprinting. *Am. J. Clin. Nutr* , v. 71, n.2, p 602-603, 2000.

Lucas A. Programming by early nutrition in man. *Ciba Found Symp*, v.156, p.38-50, 1991.

Maher VMG, Brown BG, Marcovina SM, Hilger LA, Zhao XQ, Albers JJ. Effects of lowering elevated LDL cholesterol on the cardiovascular risk of lipoprotein(a). *JAMA*, v.274, p.1771-1774, 1995.

Marshall JA, Hoag S, Shetterly S. Dietary fat predicts conversion from impaired glucose tolerance to NIDDM. *Diabetes Care*, v.17, p.50-56, 1994.

Martin RJ, Hausman GJ, Hausman DB. Regulation of adipose cell development *in utero*. *Proc Soc Exp Biol Med*, v.219, p.200-210, 1998.

Martín-Hidalgo A, Huerta L, Álvarez N, Alegría G, Toledo MV, Herrera E. Expresión, actividad, and localization of hormone-sensitive lipase in rat mammary gland during pregnancy and lactation. *J Lip Res*, v. 46, p.658-668, 2005.

Meckling KA, Gautier M, Grubb R, Sanford J. Effects of a hypocalorie, low-carbohydrate diet on weight loss, blood lipids, blood pressure, glucose tolerance, and body composition in free-living overweight women. *Can J Physiol Pharmacol*, v.80, p.1095-1105, 2002.

Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary *trans* fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N Engl J Med*, v.23, p.439, 1990.

Mondini L, Monteiro CA. Mudanças no padrão de alimentação. In: Velhos e novos males da saúde no Brasil. A evolução do país e de suas doenças. (CA Monteiro,org) 2ed. p.79-89,São Paulo:Editora Hucitec/NUPENS,2000.

Montague CT, O`Rahilly S. Causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes*, v.49, p.883-888, 2000.

Morton NM, Ramage L, Seckl JR. Down-regulation of adipose 11 -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 by high-fat feeding in mice: a potential adaptative mechanism counteracting metabolic disease. *Endocrinology*, v.145, n.6, p.2707-2712, 2004.

Moura EG, Lisboa PC, Custódio CM, Nunes MT, de Picoli Souza K, passos MC. Malnutrition during lactation changes growth hormone mRNA expression in offspring at weaning and in adulthood. *J Nutr Biochem*, v.18, n.2, p.134-139, 2007.

Moura EG, Passos MCF. Neonatal programming of body weight regulation and energetic metabolism. *Bioscience Reports*, v.25, n.3/4, p.251-269, 2005.

Moura EG, Ramos CF, Nascimento CC, Rosenthal D, Breitenbach MM. Thyroid function in fasting rats: variations in <sup>131</sup>I uptake and transient decrease in peroxidase activity. *Braz J Med Biol Res*, v.20, n.3/4, p.407-410, 1987.

Naismith DJ, Richardson DP, Pritchard AE. The utilization of protein and energy during lactation in the rat, with particular regard to the use of fat accumulated in pregnancy. *Br J Nutr*, v.48, p.433-441, 1982.

Oates M, Woodside B, Walker CD. Chronic leptin administration in developing rats reduces stress responsiveness partly through changes in maternal behavior. *Horm Behav*, v.37, p.366-376, 2000.

Oberkotter LV, Tenore A. Separation and radioimmunoassay of T3 and T4 in human breast milk. *Hormone Res*, v.17, p.11-18, 1983.

Ohlson L, Larsson B, Svardsudd K, Welin L, Eriksson H, Wilhelmsen L, Bjorntorp P, Tibblin G. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. *Diabetes*, v.34, p.1055-1058, 1985.

Oliveira E, Fagundes AT, Alves SB, Pazos-Moura CC, Moura EG, Passos MC, Lisboa PC. Chronic leptin treatment inhibits liver mitochondrial alpha-glycerol-beta-phosphate dehydrogenase in euthyroid rats. *Horm Metab Res*, v.39, n.12, p.867-870, 2007.

Oliveira KJ, Paula GSM, Costa-e-Souza RH, Souza LL, Moraes DC, Curty FH, Pazos-Moura CC. Peptide YY (PYY) 3-36 modulates thyrotropin secretion in rats. *J Endocrinol*, v.191, p.459-463, 2006.

Ortiga TMR. Secreção "in vitro" de tireotrofina basal e pós TRH de adenohipófises de ratos hipo e hipertireoideos. Monografia apresentada no Instituto de Biologia (UERJ) para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas. 1992

Ortiga-Carvalho TM, Oliveira KJ, Soares BA, Pazos-Moura CC. The role of leptin in the regulation of TSH secretion in the fed state: in vivo and in vitro studies. *J Endocrinol*, v.174, n.1, p.121-125, 2002.

Ozanne SE, Wang CL, Coleman N, Smith GD. Altered muscle insulin sensitivity in the male offspring of protein-malnourished rats. *Am J Physiol*, v.34, p.E1128-E1134, 1996.

Passos MC, Vicente LL, Lisboa PC, Moura EG. Absence of anorectic effect to acute peripheral leptin treatment in adult rats whose mothers were malnourished during lactation. *Horm Metab Res*, v.36, n.9, p.625-629, 2004.

Passos MCF, Ramos CF, Dutra SCP, Mouco T, Moura EG. Long-term effects of malnutrition during lactation on the thyroid function of offspring. *Horm Metab Res*, v.34, p.40-43, 2002.

Passos MCF, Ramos CF, Dutra SCP, Moura EG. Transfer of iodine through the milk in protein-restricted lactating rats. *J Nutr Biochem*, v.12, p.300-303, 2001a.

Passos MCF, Ramos CF, Mouço T, Moura EG. Increase of T<sub>3</sub> secreted through the milk in protein restricted lactating rats. *Nutr Res*, v.21, p.917-924, 2001b.

Passos MCF, Ramos CF, Moura EG. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. *Nutr Res*, v.20, p.1603-1612, 2000.

Pazos-Moura CC, Moura EG, Dorris ML, Rehnmark S, Melendez L, Silva JE & Taurog A. Effect of iodine deficiency and cold exposure on thyroxine 5'-deiodinase activity in various rat tissues. *Am J Physiol Endo Metab* 260: E175-E182, 1991.

Peterson GL. A simplification of the protein assay method of Lowry et al.. which is more generally applicable. *Anal Biochem*, v.83, p.346-356, 1977.

Pisani LP, Oyama LM, Bueno AA, Biz C, Albuquerque KT, Ribeiro EB, Nascimento CMO. Hydrogenated fat intake during pregnancy and lactation modifies serum lipid profile and adipokine mRNA in 21-day-old rats. *Nutrition*, in press, 2008.

Phillips DI, Barker DJ, Osmond C. Infant feeding, fetal growth and adult thyroid function. *Acta Endocrinol*, v.129, n.2, p.134-138, 1993.

Pine AP, Jessop NS, Oldham JD. Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats: the effect of dietary protein restriction and stage of lactation on milk composition. *Br J Nutr*, v.72, p.815-830, 1994.

Pond WG, Mersmann HJ, Yen JT. Severe feed restriction of pregnant swine and rats: Effects on postweaning growth and body composition of progeny. *J Nutr*, v.115, p.179-189, 1985.

Popkin BM. Nutritional patterns and transitions. *Pop Develop Rev*, v.19, n.1, p.138-157, 1993.

Prentice AM, Goldberg GR, Prentice A. Body mass index and lactational performance. *Eur J Clin Nutr*, v.48, n.3, p.S78-S89, 1994.

Proserpi C, Sparti A, Schutz Y, Vetta D, Milon H, Jéquier E. Ad libitum intake of a high-carbohydrate or high-fat diet in young men: effects on nutrient balances. *Am J Clin Nutr*, v.66, n.3, p.539-545, 1997.

Raben A, Astrup A. Leptin is influenced both by predisposition to obesity and diet composition. *Int J Obes Relat Metab Disord*, v.24, n.4, p.450-459, 2000.

Raber J, Chen S, Mucke L, Feng L. Corticotropin-releasing factor and adrenocorticotrophic hormone as potential central mediators of OB effects. *J Biol Chem*, v.272, n.24, p.15057-15060, 1997.

Rajala MW, Scherer PE. Minireview: the adipocyte – at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology*, v.144, p.3765-3773, 2003.

Ramos CF, Teixeira CV, Passos MC, Pazos-Moura CC, Lisboa PC, Curty FH, de Moura EG. Low-protein diet changes thyroid function in lactating rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, v.224, n.4, p.256-263, 2000.

Ramos CF, Lima APS, Teixeira CV, Brito PD, Moura EG. Thyroid function in post-weaning rats, which dams were fed a low protein diet during suckling. *Braz J Med Biol Res*, v.30, p.133-137, 1997.

Rask E, Walker BR, Soderberg S, Livingstone DE, Eliasson M, Johnson O, Andrew R, Olsson T. Tissue-specific changes in peripheral cortisol metabolism in obese women: increased adipose 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity. *J Clin Endocrinol Metab*, v.87, n.7, p.3330-3336, 2002.

Ravelli ACJ, van der Meulen JHP, Michels RPJ, Osmond C, Barker DJP, Hales CN, Bleker OP. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet*, v.351, p.173-177, 1998.

Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med*, v.295, n.7, p.349-353, 1976.

Reeves P. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr*, v.127, p.838S-841S, 1997.

Reiser R, Sidelman Z. Control of serum cholesterol homeostasis by cholesterol in the milk of the suckling rat. *J Nutr*, v.102, p.1009-1016, 1972.

Reynolds K, He J. Epidemiology of the metabolic syndrome. *Am J Med Sci*, v.330, n.6, p.273-279, 2005.

Robinson JJ. Changes in body composition during pregnancy and lactation. *Proc Nutr Soc*, v.45, p.71-80, 1986.

Rolls BA, Gurr MI, Van Duijvenvoorde P M, et al.. Lactation in lean and obese rats : effect of cafeteria feeding and of dietary obesity on milk composition. *Physiol Behav*, v.38, n.2, p.185-190, 1986.

Rolls BJ, Van Duijvenvoorde PM, Rowe,EA. Effects of diet and obesity on body weight regulation during pregnancy and lactation in the rat. *Physiol Behav*, v.32, n.2, p.161-168, 1984.

Rosado EL, Monteiro JBR. Obesidade e substituição de macronutrientes da dieta. *Revista de Nutrição de Campinas*, v.14, n.2, p.145-152, 2001.

Rosencrans JE. Does the body defend weight at a set point? *Healthy Weight J*. v.8, n.3, p.47, 1994.

Rothwell NJ, Saville ME, Stock MJ, Wyllie MG. Catecholamine and thyroid hormone influence on brown fat Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase activity and thermogenesis in the rat. *Horm Metab Res*, v.14, n.5, p.261-265, 1982.

Sack J, Amado O, Lunenfeld B. Thyroxine content in human milk. *J Clin Endocrinol Metab*, v.45, p.171-173, 1977.

Sacks FM. Is there anything to add to our lipid risk factor for coronary heart disease? *Am J Cardiol*, v.15, p.1263-1264, 1995.

Samaha FF, Iqbal N, Seshadri P, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, Williams T, Williams M, Gracely EJ, Stern L. A low-carbohydrate as compared with a low-fat diet in severe obesity. *N Engl J Med*, v.348, p.2074-2081, 2003.

Sawaya AL. Transição: desnutrição energético-protéica e obesidade. In: Sawaya AL (Org.), Ferrari AA et al. Desnutrição urbana no Brasil em um período de transição. São Paulo: Cortez, p.35-61, 1997.

Sawaya AL, Amigo H, Sigulem DM. Alterações metabólicas e antropométricas na desnutrição protéico-calórica em crianças do município de São Paulo. *J Ped*, v.65, p.393-398, 1989.

Seckl JR, Walker BR. Minireview: 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type-1 – a tissue-specific amplifier of glucocorticoid action. *Endocrinology*, v.142, p.1371-1376, 2001.

Silva AP, Guimarães DE, Mizurini DM, Maia IC, Ortiz-Costa S, Sardinha FL, Tavares do Carmo MG. Dietary fatty acids early in life affect lipid metabolism and adiposity in Young rats. *Lipids*, v.41, n.6, p.535-541, 2006.

Stansbie D, Browsey RW, Crettaz M, Demton RM. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of acids synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxilase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. *Biochem J*, v.160, p.413-6, 1976.

Stephens DN. Growth and the development of dietary obesity in adulthood of rats which have been undernourished during development. *Br J Nutr*, v.44, p.215-227, 1980.

Strbak V, Macho L, Knopp J, Struhárová E. Thyroxine content in mother milk and regulation of thyroid function of suckling rats. *Endocrinologia Experimentalis*, v.8, p.59-69, 1974.

Sundram K, Ismail A, Hayes K C, Jeyamalar R, Pathmanathan R. *Trans* (elaidic) fatty acids adversely affect the lipoprotein profile relative to specific saturated fatty acids in humans. *J Nutr*, v.127, p. 514S–520S, 1997.

Tenore A, Parks JS, Gasparo M, Koldovsky O. Thyroidal response to peroral TSH in suckling and weaned rats. *Am J Clin Physiol*, v.238, n.5, p.428-430, 1980.

Thomas MJ, Rudel LL. Dietary fatty acids, low density lipoprotein composition and oxidation in primate atherosclerosis. *J Nutr*, v.126, p.1058S-1062S, 1996.

Toste FP, Moura EG, Lisboa PC, Fagundes AT, Oliveira E, Passos MC. Neonatal leptin treatment programmes leptin hypothalamic resistance and intermediary metabolic parameters in adult rats. *Br J Nutr*, v. 95, n.4, p.830-837, 2006.

Toste FB, Alves, SB, Dutra SC, Bonomo IT, Lisboa PC, Moura EG, Passos MC. Temporal evaluation of the thyroid function of rats programmed by leptin treatment on the neonatal period. *Horm Metab Res*, v.38, n.12, p.827-831, 2006.

Trayhurn P. Adipose tissue in obesity – an inflammatory issue. *Endocrinol*, v.146, n.3, p.1003-1005, 2005.

Trevenzoli IH, Valle MMR, Machado FB, Garcia RMG, Passos MCF, Lisboa PC, Moura EG. Neonatal hyperleptinaemia programmes adrenal medullary function in adult rats: effects on cardiovascular parameters. *J Physiol*, v.580, n.2, p.629-637, 2007.

Trottier G, Koski KG, Brun T, Toufexis DJ, Richard D, Walker CD. Increased fat intake during lactation modifies hypothalamic-pituitary-adrenal responsiveness in developing rat pups: a possible role for leptin. *Endocrinol*, v.139, n.9, p.3704-3711, 1998.

Tulp OL, Gregory MH, Danforth E. Characteristics of diet-induced brown adipose tissue growth and thermogenesis in rats. *Life Sci*, v.30, n.18, p.1525-1530, 1982.

Valsamakis G, Anwar A, Tomlinson JW, Shackleton CH, McTernan PG, Chetty R, Wood PJ, Banerjee AK, Holder G, Barnett AH, Stewart PM, Kumar S. 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in lean and obese males with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, v.89, n.9, p.4755-4761, 2004.

Varas SM, Muñoz EM, Hapon MB, Merlo CIA, Gimenez MS, Jahn GA. Hyperthyroidism and production of precocious involution in the mammary glands of lactating rats. *Reproduction*, v.124, n.5, p.691-702, 2002.

Vasquez JA, Adibi SA. Protein sparing during treatment of obesity: ketogenic versus nonketogenic very low calorie diet. *Metabolism*, v.41, p.406-414, 1992.

Vessby B, Aro A, Skarfors E, Berglund L, Salminen I, Lithell H. The risk to develop NIDDM is related to the fatty acid composition of the serum cholesterol esters. *Diabetes*, v.43, n.11, p.1353-1357, 1994.

Vicente LL, Moura EG, Lisboa PC, Costa AMA, Amadeu T, Mandarim-de-Lacerda CA, Passos MCF. Malnutrition during lactation in rats is associated with higher expression of leptin receptor in the pituitary of adult offspring. *Nutrition*, v. 20, p.924-928, 2004.

Villalpando S, Butte NF, Flores-Huerta S, Thotathuchery M. Qualitative analysis of human milk produced by women consuming a maize-predominant diet typical of rural Mexico. *Ann Nutr Metab*, v.42, n.1, p.23-32, 1998.

Volek JS, Scharman MJ, Gomez AL, Judelson DA, Rubin MR, Watson G, Sokmen B, Silvestre R, French DN, Kraemer WJ. Comparison of energy-restricted very low-carbohydrate and low-fat diets on weight loss and body composition in overweight men and women. *Nutr Metab*, v.1, n.1, p.13-25, 2004.

Volek JS, Scharman MJ, Love DM, Avery NG, Gomez AL, Scheett TP, Kraemer WJ. Body composition and hormonal response to a carbohydrate-restricted diet. *Metabolism*, v.51, p.864-870, 2002.

Walker EA, Stewart PM.  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase: unexpected connections. *Trends Endocrinol Metab*, v.17, n.7, p.334-339, 2003.

Warman NL, Rasmussen KM. Effects of malnutrition during the reproductive cycle on nutritional status and lactational performance of rat dams. *Nutr Research*, v.3, p.527-545, 1983.

Yagil R, Etzion Z, Berlyne GM. Changes in rat milk quantity and quality due to variations in litter size and high ambient temperature. *Lab Na Sci*, v.26, p.33-37, 1976.

Yoshida T, Monkawa T, Hayashi M, Saruta T. Regulation of expression of leptin mRNA and secretion of leptin by thyroid hormone in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, v.232, n.3, p.822-826, 1997.

Young CM, Scanlan SS, Im HS, Lutwak L. Effect of body composition and other parameters in obese young men of carbohydrate level of reduction diet. *Am J Clin Nutr*, v.24, p.290-296, 1971.

Zar JH. *Bioestatistical analysis*. 4<sup>th</sup> edition. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1998.

# 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](#)