

INFLUÊNCIA DO “IMPRINTING METABÓLICO” NO DESENVOLVIMENTO PONDERAL DE NEONATOS. ESTUDO EXPERIMENTAL

INFLUENCE OF "METABOLIC IMPRINTING" ON THE WEIGHT DEVELOPMENT OF NEONATES. EXPERIMENTAL STUDY

Fabiana Marques da Silveira, Yasmin Domingues Bruno, Cármina Garcia Martins, Jéssica Castelo Branco de Vasconcellos, Maria Júlia Milagre de Souza, Camille Vitória de Oliveira dos Santos, Cauã Classen André Machado, Marcel Vasconcellos, Carlos Alfredo Franco Cardoso

RESUMO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) aponta a obesidade como um dos maiores problemas de saúde pública mundial, assim como o aumento na prevalência de obesidade em mulheres grávidas. Estudos epidemiológicos e experimentais têm sugerido que as primeiras experiências nutricionais do indivíduo podem afetar sua suscetibilidade para doenças crônicas na idade adulta, tais como obesidade, hipertensão, doença cardiovascular e diabetes do tipo 2, o que tem recebido a denominação de "imprinting metabólico". O estudo objetiva comparar o desenvolvimento ponderal e morfometria da prole de fêmeas Wistar submetidas a dieta hipercalórica *versus* dieta normocalórica. Para tanto, doze ratos (*Rattus norvegicus*), Wistar, fêmeas, com idade de três meses e peso de 250 ± 20 g, foram mantidas sob ciclo circadiano (12h claro/12h escuro), controle de temperatura (22 ± 2 °C), além de cuidados padronizados de higiene, na Instalação de Ciência Animal do UNIFESO. Os animais foram distribuídos randomicamente em Grupo Controle (GC, n = 6), fêmeas com consumo alimentar *ad libitum* de ração normocalórica Nuvilab CR-1[®] por oito semanas (duas semanas antes e seis semanas após o parto), e Grupo Hiperlipídico (GH, n = 6), fêmeas com consumo *ad libitum* de ração hiperlipídica, por igual período. Foi procedido o acasalamento dos animais e aos 21 dias determinado o índice glicêmico das fêmeas em lactação. Utilizou-se o índice de Lee na caracterização da obesidade dos neonatos de ambos os gêneros. Em seguida, os animais foram pesados a cada 30 dias até a fase de maturidade sexual (90 dias). Em relação ao índice de Lee e IMC, não houve diferença significativa entre o GC e GH ($p > 0,05$). A obesidade materna antes e durante a gestação, não demonstrou influenciar o fenótipo da prole, sugerindo uma baixa herdabilidade genética na espécie.

Palavras-chave: Obesidade; Aleitamento materno; Ratos Wistar.

ABSTRACT

The World Health Organization (WHO) points out obesity as one of the biggest public health problems worldwide, as well as the increase in the prevalence of obesity in pregnant women. Epidemiological and experimental studies have suggested that the individual's first nutritional experiences can affect their susceptibility to chronic diseases in the adult age, such as obesity, hypertension, cardiovascular disease and type 2 diabetes, which has been called "metabolic imprinting". The study aims to compare the weight development and morphometry of the offspring of Wistar females submitted to a hypercaloric diet versus a normocaloric diet. For this purpose, twelve female Wistar rats (*Rattus norvegicus*), aged three months and weighing 250 ± 20 g, were kept under a circadian cycle (12h light/12h dark), temperature control (22 ± 2 °C), in addition to standardized hygiene care, at the UNIFESO Animal Science Laboratory. The animals were randomly distributed into a Control Group (CG, n = 6), females with *ad libitum* food consumption of Nuvilab CR-1[®] (two weeks before and six weeks after delivery) normocaloric ration for eight weeks and Hyperlipidic Group (HG, n = 6), females with *ad libitum* consumption of hyperlipidic diet for

the same period. The animals were mated and at 21 days the glycemic index of the lactating females was determined. The Lee index was used to characterize the obesity of newborns of both genders. Then, the animals were weighed every 30 days until sexual maturity (90 days). Regarding the Lee index and BMI, there was no significant difference between CG and GH ($p > 0.05$). Maternal obesity before and during pregnancy has not been shown to influence the offspring's phenotype, suggesting a low genetic heritability in the species.

Keywords: Obesity; Breastfeeding; Wistar rats.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) alerta que coexistindo paradoxalmente com a desnutrição, uma epidemia global de sobrepeso e obesidade cresce atualmente em muitas partes do mundo (WHO, 2019).

Dados da Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica, indicam que 50% da população Brasileira encontra-se acima do peso (sobrepeso e obesidade) (ABESO, 2008).

A obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo e sua projeção para 2025 é de cerca de 2,3 bilhões de adultos em sobrepeso e mais de 700 milhões de indivíduos dentro do quadro de obesidade (WHO, 2019).

Nesse cenário, é possível observar o aumento na prevalência de obesidade em mulheres grávidas. A obesidade é uma doença inflamatória, sistêmica e multifatorial que pode contribuir na perda da qualidade de vida e homeostase, favorecendo o surgimento de doenças crônicas tais como diabetes, hipertensão, dislipidemia, entre outras (WANDERLEY & FERREIRA, 2007).

Em que pese, o conhecimento atual sobre o assunto, ainda não são completamente conhecidas as alterações na composição do leite materno de mulheres grávidas obesas, assim como seus reflexos no desenvolvimento ponderal infantil.

A hipótese de que o aleitamento materno teria um efeito protetor contra a obesidade não é recente. Contudo, resultados controversos têm sido encontrados e o tema permanece extremamente atual, principalmente frente ao importante aumento que vem sendo observado na prevalência da obesidade infantil (BALABAN, 2004).

Estudos epidemiológicos e experimentais têm sugerido que as primeiras experiências nutricionais do indivíduo podem afetar sua suscetibilidade para doenças crônicas na idade adulta, tais como obesidade, hipertensão, doença cardiovascular e diabetes Tipo 2, o que tem recebido a denominação de "imprinting metabólico" (WATERLAND & GARZA, 1999).

O termo "imprinting metabólico" descreve um fenômeno através do qual uma experiência nutricional precoce, atuando durante um período crítico e específico do desenvolvimento, acarretaria um efeito duradouro, persistente ao longo da vida do indivíduo, predispondo a determinadas doenças.

Waterland e Garza (1999), propuseram alguns potenciais mecanismos através dos quais o fenômeno de "imprinting metabólico" poderia ocorrer, entre eles indução de variações na estrutura de determinados órgãos (modificações na vascularização, inervação ou na justaposição dos diferentes tipos celulares dentro do órgão), alterações no número de células e diferenciação metabólica (alterações na expressão de determinados genes, acarretando variações na produção de enzimas, hormônios, receptores hormonais, transportadores transmembrana, etc ...).

O aleitamento materno representa uma das experiências nutricionais mais precoces do recém-nascido, dando continuidade à nutrição iniciada na vida intra-uterina. Vários fatores bioativos estão presentes no leite humano, entre eles hormônios e fatores de crescimento, que vão atuar sobre o crescimento, a diferenciação e a maturação funcional de órgãos específicos, afetando vários aspectos do desenvolvimento.

A composição única do leite materno poderia portanto estar implicada no processo de "imprinting metabólico", alterando por exemplo o número e/ou tamanho dos adipócitos ou induzindo o fenômeno de diferenciação metabólica (WATERLAND & GARZA, 1999).

Desse modo, a validação de um modelo experimental para o estudo da obesidade e Síndrome metabólica, possibilitará estudos ulteriores nas diversas áreas das Ciências da Saúde do UNIFESO.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Comparar o desenvolvimento ponderal e morfometria da prole de fêmeas Wistar submetidas a dieta hipercalórica *versus* normocalórica.

Objetivo específico

Desenvolver ração hiperlipídica para o estudo da obesidade;

Desenvolver a Iniciação científica para os discentes da Graduação;

Promover a integração entre diferentes áreas das Ciências da Saúde.

MÉTODOS

Caracterização da amostra e desenho do estudo experimental

O estudo foi aprovado pela CEUA/UNIFESO, sob n.º de referência 514/2020 e encontra-se de acordo com a Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, bem como em conformidade com os princípios adotados internacionalmente, sobre a utilização, manutenção e proteção de animais de laboratório.

Amostra

Foram utilizados 12 ratos (*Rattus norvegicus*, *Rodentia mammalia* – Berkenhout, 1769), da linhagem Wistar, fêmeas, com idade de três meses e peso de 250 ± 20 g, mantidas sob ciclo circadiano (12h claro/12h escuro), controle de temperatura (22

± 2 °C), umidade relativa do ar ($55 \pm 5\%$), além de cuidados padronizados de higiene e alimentação, na Instalação de Ciência Animal do UNIFESO.

Desenho do estudo experimental

Os animais foram randomizados em dois grupos:

I- Grupo Controle (n = 6), fêmeas com consumo alimentar *ad libitum* de ração comercial própria para roedores Nuvilab CR-1® (55% de carboidratos, 22,5% de proteína e 14,5% de gordura), por 8 semanas (2 semanas antes e 6 semanas após o parto)

II- Grupo Hiperlipídico (n = 6), fêmeas com consumo *ad libitum* de ração hiperlipídica, preparada no Laboratório de Produtos de Origem Animal (UNIFESO), por igual período.

Desenvolvimento ponderal e dados morfométricos

O peso corporal das mães foi mensurado antes da implementação das dietas controle e experimental e ao final do experimento. O peso corporal da prole foi mensurado mensalmente desde o nascimento até o 90º dia, utilizando balança digital com registro em planilhas. De igual modo, o comprimento dos filhotes foi mensurado mensalmente para determinação do Índice de Lee.

O índice de Lee pode ser usado como forma acurada e rápida para determinar obesidade em ratos submetidos a um método de ganho de peso. Consiste na divisão da raiz cúbica do peso em gramas pelo comprimento nasoanal em milímetros e multiplicado por 1000. O resultado configura o índice nutritivo ou índice de Lee como mensuração de obesidade. O índice de Lee e a massa gorda têm correlação. Ele pode ser usado como forma acurada e rápida de medir obesidade em experimento submetido a um método de ganho de peso. Torna-se necessária associação de um índice com outros dados antropométricos, como a circunferência abdominal, comprimento nasoanal e dados metabólicos¹⁸.

O IMC é o índice de massa corporal. É considerado o padrão internacional, adotado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e utilizado para medir a obesidade e o seu grau, o que influencia diretamente em questões de saúde. O IMC é a relação entre peso e altura e o cálculo é feito de acordo com a fórmula: $IMC = \text{peso} / (\text{altura} \times \text{altura})$, devendo o peso estar em kg e a altura em metro, e o resultado é dado em kg/m^2 . A altura em roedores é medida em cm pelo comprimento do membro anterior (altura do ombro-membro anterior, expressa em cm).

Índice glicêmico

Aos 21 dias, foi colhido sangue venoso (0,1 ml) pela veia lateral da cauda (porção distal), para controle glicêmico das gestantes de ambos os grupos. Utilizou-se um glicosímetro da marca comercial G-TECH® e tiras reagentes.

Preparo da ração hiperlipídica

O preparo da ração foi realizado em condições apropriadas de higiene. A trituração da ração NUVILAB CR-1® ocorreu em moinho tipo Willye da marca comercial Tecnal®, modelo TE-650/1.

Figura 1. Preparo da ração hiperlipídica



Fonte: Laboratório de Produtos de Origem Animal (UNIFESO)

Composição da dieta

I- Grupo Controle

Ração NUVILAB CR-1®

Composição básica do produto:

Com o auxílio de uma batedeira do tipo caseira, a ração triturada foi misturada com banha de porco e água. A proporção dos ingredientes utilizados foi de 20 g de banha de porco e 200 ml de água, para cada 100 g de ração triturada.

A massa resultante da mistura dos ingredientes foi prensada e modelada manualmente formando pequenos cubos cilíndricos, os quais foram levados para estufa a 50 °C por 20 horas, com finalidade de obter a aparência e textura similar a ração original (Figura 1A).

Após retirada da estufa (Figura 1B), a ração modificada foi acondicionada em sacos plásticos e preservada sob refrigeração (5 ± 3 °C).

A ração modificada apresentou boa palatabilidade e aceitação pelos animais, sendo oferecida ao Grupo Hiperlipídico (GH), durante duas semanas antes do parto e por seis semanas após.

Milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, premix vitamínico mineral e aminoácidos (Tabela 1).

Tabela 1. Informação nutricional da ração padrão NUVILAB CR-1[®]

Informação nutricional		
Porção de 100 g		
Quantidade por porção		% VCT*
Valor energético	339 Kcal	100%
Carboidrato	54 g	63,4%
Proteína	22 g	25,9%
Lípido	4 g	10,6%
Fibras	7 g	-
Sódio	0,27 mg	-

* % do valor calórico total. Fonte: Nuvilab CR-1[®]

II- Grupo Hiperlipídico

Ração hiperlipídica

Composição básica do produto:

Composto da ração NUVILAB CR-1[®], acrescida de banha de porco (Tabela 2).

Tabela 2. Informação nutricional da ração modificada

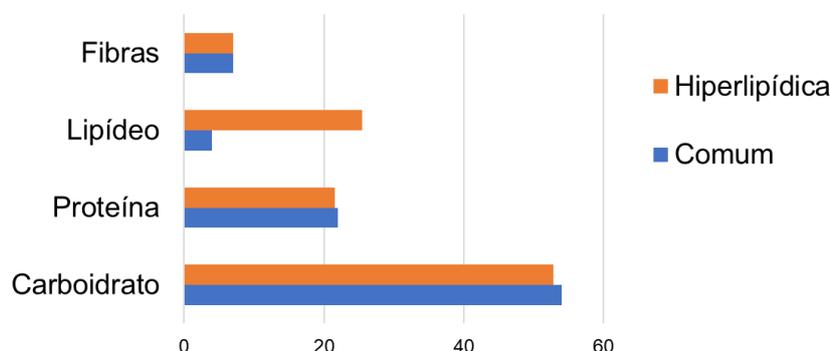
Informação nutricional		
Porção de 100 g		
Quantidade por porção		% VCT*
Valor energético	527 Kcal	100%
Carboidrato	52,8 g	40,04%
Proteína	21,6 g	16,32%
Lípido	25,5 g	43,64%
Fibras	7 g	
Sódio	0,27 mg	
Gordura saturada	39 g	
Gordura poliinsaturada	11 g	
Gordura Monoinsaturada	45 g	
Colesterol	95 g	

* % do valor calórico total. Fonte: Autores.

Tabela 3. Comparação nutricional das rações

	COMUM	HIPERLIPÍDICA
Valor energético	339 Kcal	527 Kcal
Carboidrato	54 g	52,8 g
Proteína	22 g	21,6 g
Lipídeo	4 g	25,5 g
Fibras	7 g	7 g
Sódio	0,27 mg	0,27 mg
Gordura saturada		39 g
Gordura poliinsaturada		11 g
Gordura monoinsaturada		45 g
Colesterol		95 g

Fonte: Autores.

Figura 2. Comparação da composição entre as rações


A porcentagem de fibras, proteína e carboidratos em ambas as rações são iguais; Já em relação aos lipídeos estas se mostram diferentes. Fonte: Autores.

Análise estatística de dados

As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico SPSS versão 22.0® (Belmont, CA, EUA). Para comparar as médias entre os grupos estudados, foi utilizada a análise de variância (ANOVA). Em todos os testes foi estabelecido um intervalo de confiança de 95% (IC = 95%) e grau de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Para o cálculo do índice de Lee após o nascimento dos filhotes do Grupo Controle, E Grupo Hiperlipídico, alguns cuidados foram tomados no que se refere à manipulação dos animais.

Considerando que as fêmeas são extremamente sensíveis à odores estranhos, durante a manipulação de suas crias, as mãos enluvasadas dos pesquisadores foram misturadas com a maravalha da gaiola que os animais se

encontravam. Este cuidado evitou a rejeição dos filhotes pelas matrizes.

Foi observada uma boa uniformidade da ninhada ao nascimento, independentemente do gênero, o que demonstrou que as matrizes

aleatoriamente escolhidas, formaram um grupo homogêneo e ideal para o estudo.

Em relação aos neonatos de ambos os gêneros, no dia do nascimento, o peso corporal (g) e o comprimento do focinho-ânus (cm) foram aferidos, como demonstrado na figura 2.

Figura 2. Determinação do peso corporal e índice de Lee dos neonatos



Após a avaliação do peso corporal (g), seguiu-se a mensuração do comprimento focinho-ânus (cm), calculando-se o índice de Lee. O índice pode ser usado como uma forma rápida e acurada para determinar a obesidade em ratos submetidos a um método de ganho de peso. Fonte: Autores.

O índice de Lee e IMC dos filhotes do Grupo Controle e Grupo Hiperlipídico foi calculado ao nascimento, aos 60 e 90 dias, como descrito nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Índice de Lee e IMC das fêmeas do Grupo Controle

Ratas	Ao nascimento				60 dias				90 dias			
	Peso (g)	Medida (cm)	Índice de Lee	IMC	Peso (g)	Medida (cm)	Índice de Lee	IMC	Peso (g)	Medida (cm)	Índice de Lee	IMC
1	7,07	4,50	0,4265	0,3491	190,0	20,0	0,2874	0,475	218,0	20,0	0,3009	0,5450
2	6,53	5,0	0,3738	0,2612	190,0	20,0	0,2874	0,475	224,0	20,0	0,3036	0,5600
3	6,61	5,0	0,3753	0,2644	190,0	20,0	0,2874	0,475	218,0	20,0	0,3009	0,5450
4	6,21	5,0	0,3676	0,2484	190,0	20,0	0,2874	0,475	220,0	20,0	0,3018	0,5500
5	6,48	5,0	0,3728	0,2592	190,0	20,0	0,2874	0,475	240,0	20,0	0,3107	0,6000
6	6,75	5,0	0,3779	0,2700	-	-	-	-	-	-	-	-
Média	6,6 ±	4,91 ±	0,38 ±	0,27 ±	190,0	20,0	0,28	0,47	224 ±	20,0	0,30	0,56 ±
± DP	0,26	0,18	0,01	0,03					8,29			0,02

DP = Desvio-padrão da média. Fonte: Autores.

Tabela 3. Índice de Lee e IMC das fêmeas do Grupo Hiperlipídico

Rato	Ao nascimento				60 dias				90 dias			
	Peso (g)	Medida (cm)	Índice de Lee	IMC	Peso (g)	Medida (cm)	Índice de Lee	IMC	Peso (g)	Medida (cm)	Índice de Lee	IMC
1	6,8	6,0	0,3157	0,1888	210,0	18,0	0,3302	0,6481	220,0	19,0	0,3177	0,6094
2	7,23	6,0	0,3222	0,2008	160,0	18,0	0,3016	0,4938	190,0	18,5	0,3107	0,5551
3	8,13	6,0	0,3351	0,2258	174,0	18,0	0,3101	0,5370	198,0	19,0	0,3067	0,5484
4	7,98	6,0	0,3330	0,2216	166,0	18,0	0,3053	0,5123	210,0	19,5	0,3048	0,5522
5	8,6	6,0	0,3414	0,2388	142,0	18,0	0,2898	0,4382	212,0	19,0	0,3138	0,5872
6	8,17	6,0	0,3356	0,2269	152,0	18,0	0,2964	0,4691	234,0	19,5	0,3160	0,6153
Média ± DP	7,81 ± 0,61	6,0	0,33	0,217 ± 0,016	167,33 ± 21,59	18,0	0,30 ± 0,01	0,51 ± 0,06	210 ± 14,27	19,0 ± 0,34	0,31	0,57 ± 0,02

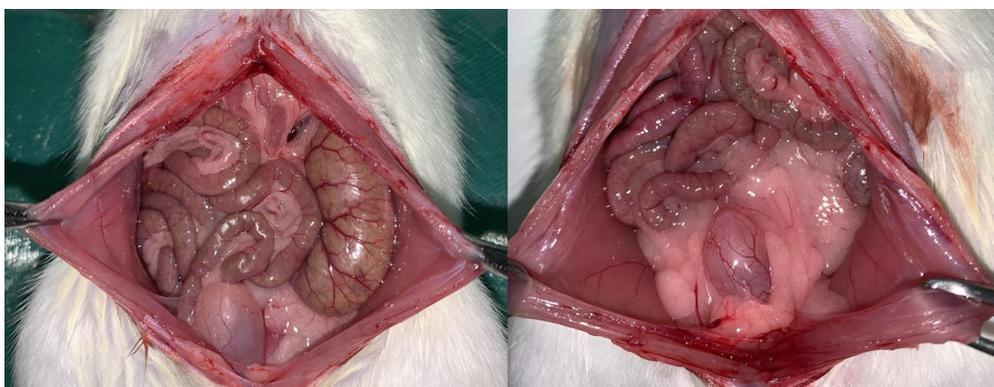
DP = Desvio-padrão da média. Fonte: Autores.

Em relação ao índice de Lee e IMC, não houve diferença significante entre o GC e GH ($p > 0,05$).

Tabela 6. Índice de Lee e IMC das matrizes após 8 semanas do regime alimentar

Peso corporal	Peso (g)	Comprim. (cm)	Índice de Lee	IMC
Matriz (ração normocalórica)	246,0	19,0	0,3297	0,6814
Matriz (ração hiperlipídica)	280,0	19,0	0,3443	0,7756

As matrizes que ingeriram ração hiperlipídica apresentaram $>$ IMC. Fonte: Autores.

Figura 3. Gordura visceral das matrizes do GC e GH


As matrizes alimentadas com ração hiperlipídica (B) apresentaram maior % de gordura visceral, se comparadas ao GC (A). Fonte: Autores.

DISCUSSÃO

Dados de literatura, mostram que a escolha do rato (*Rattus norvegicus*) tratado com dieta hipercalórica e hiperlipídica, é um modelo adequado para o estudo da obesidade e da síndrome metabólica humana (DA SILVA et al., 2010).

Considerando que rações comerciais com alto teor calórico e energético, apresentam custo elevado, por terem em sua composição ingredientes como milho, soja e trigo, os quais competem com a alimentação humana, discentes do Curso de Graduação em Nutrição do UNIFESO, desenvolveram uma ração hiperlipídica de fácil preparo, boa palatabilidade, conservação e baixo custo (Figura 1).

A adoção de dietas hipercalóricas ou dietas hiperlipídicas tem sido utilizada como um modelo de indução de obesidade em animais de laboratório. Este modelo é extremamente útil devido à sua semelhança com a gênese e com as respostas metabólicas decorrentes da obesidade em animal nobile (TSCHÖP & HEIMAN, 2001).

Corroborando com Tschöp & Heiman, as matrizes alimentadas com dieta hiperlipídica apresentaram após 60 dias, índice de Lee, IMC, % de gordura visceral e glicemia mais elevados, quando comparados ao GC, atestando a obesidade (Figura 3; Tabela 6).

Ratos da linhagem Wistar tratados com dieta hipercalórica e hiperlipídica durante 90 dias aumentaram 1,4 vezes a massa corporal quando comparados aos seus controles (DA SILVA et al., 2010). No presente estudo, as matrizes alimentadas por 60 dias também mostraram expressivo aumento de sua massa corporal.

Com relação à glicemia, poucos estudos reportaram aumento significativo deste parâmetro bioquímico (NASCIMENTO et al., 2008). No estudo, verificou-se que a glicemia foi significativamente maior no Grupo Hiperlipídico (Figuras 4).

Para que o modelo de obesidade induzida por dieta seja eficaz, algumas medidas relacionadas com o ambiente onde o animal é mantido devem ser observadas, principalmente quando são utilizados roedores sem mutações genéticas, como os animais do presente estudo.

Vale lembrar, que o número de animais por gaiola não ultrapassou a lotação de quatro e o controle de temperatura e de luminosidade foi rigorosamente padronizado durante todo o experimento. É sabido que o aumento da temperatura ambiente diminui o gasto energético que o animal teria para manter sua temperatura corporal no caso de ambientes mais frios e, com isso, um balanço energético positivo seria gerado. Ademais, os roedores possuem hábitos noturnos e, assim, um aumento no período escuro do ciclo circadiano, proporcionaria maior tempo para a ingestão do alimento (ESTADELLA, 2004).

Ainda segundo Tschöp & Heiman, 2001, a idade do animal no início do protocolo experimental pode interferir no ganho de massa corporal. Seguindo essas orientações, utilizou-se animais com aproximadamente 100 dias, para que fossem submetidos à indução da obesidade por dieta. Entretanto alguns estudos apontam que animais jovens (< 90 dias), alimentados com dieta hipercalórica por longo período também aumentaram o peso corporal com relação ao grupo controle (TSCHÖP & HEIMAN, 2001).

Embora a obesidade humana possua uma taxa de herdabilidade significativa, na qual indivíduos com parentes obesos têm de 30% a 75% de probabilidade de apresentar o mesmo fenótipo (GONZÁLEZ et al., 2017), as matrizes do GH não conferiram esta característica à sua prole, como demonstrado aos 90 dias (IMC: GC = GH * $p > 0,05$).

Cumpre esclarecer que diferentes definições de exposição e desfecho dificultaram a comparação com outros estudos experimentais.

Reitera-se que a utilização do modelo de obesidade induzida por dieta em animais mostrou-se eficiente para o estudo da

fisiopatologia das complicações associadas à obesidade, haja vista, que este é o modelo mais próximo da gênese da obesidade em humanos (TSCHÖP & HEIMAN, 2001).

O objetivo de promover a integração entre diferentes áreas das Ciências da Saúde, foi plenamente atingido, haja vista a participação de alunos dos Cursos de Graduação em Medicina, Biomedicina, Nutrição, Enfermagem e Medicina Veterinária. Do mesmo modo, foi desenvolvida a capacitação do corpo discente no que se refere ao preparo da ração hiperlipídica, mensurações morfométricas, cuidados com a espécie e metodologia científica.

CONCLUSÕES

A obesidade materna antes e durante a gestação, não demonstrou influenciar o fenótipo da prole, sugerindo uma baixa herdabilidade genética na espécie.

REFERÊNCIAS

1. AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION (AIN), AIN-93. (1993). Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76-A rodent diet. **J Nutr.** 123: 1939-51.
2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). (2008). Mapa da Obesidade. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapaobesidade>
3. DA SILVA, A. S.; PAULI, J. R.; ROPELLE, E. R.; OLIVEIRA, A. G.; CINTRA, D. E.; DE SOUZA, C. T.; et al. (2010). Exercise intensity, inflammatory signaling and insulin resistance in obese rats. **Med Sci Sports Exerc.** 42(12): 2180-8.
4. DE MORAES, C.; CAMARGO, E. A.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G.; ZANESCO, A. (2007). Reactivity of mesenteric and aortic rings from trained rats fed with high caloric diet. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.** 147(3): 788-92.
5. DE MORAES, C.; DAVEL, A. P.; ROSSINI, L. V.; ANTUNES, E.; ZANESCO, A. (2008). Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC Physiol.** 29: 8-12.
6. ESTADELLA, D.; OYAMA, L. M.; DÂMASO, A. R.; RIBEIRO, E. B.; OLLER DO NASCIMENTO, C. M. (2004). Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition.** 20(2): 218-24.
7. MILANSKI, M.; DEGASPERI, G.; COOPE, A.; MORARI, J.; DENIS, R.; CINTRA, D. E.; et al. (2009). Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. **J Neurosci.** 29(2): 359-70.
8. NASCIMENTO, A. F.; SUGIZAKI, M. M.; LEOPOLDO, A. S.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; LUVIZOTTO, R. A.; NOGUEIRA, C. R.; et al. (2008). A hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and co- morbidities in wistar rats. **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 52(6): 968-74.
9. TSCHÖP, M.; HEIMAN, M. L. (2001). Rodent obesity models: an overview. **Exp Clin Endocrinol Diabetes.** 109(6): 307-19.
10. ROSINI, T. C.; DA SILVA, A. S. R.; MORAES, C. (2012). Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Rev Assoc Med Bras.** 58(3): 383-87.
11. WANDERLEY, E. M.; FERREIRA, V. A. (2010). Obesidade: uma perspectiva plural. **Ciência e Saúde Coletiva.** 15(1).
12. WATERLAND, R. A.; GARZA, C. (1999) Potential mechanisms of metabolic imprinting

that lead to chronic disease. **Am J Clin Nutr** 69: 179-97.

13. KANNO, T.; KOYANAGI, N.; KATOKU, Y.; YONEKUBO, A.; YAJIMA, T.; KUWATA, T.; KITAGAWA, H.; HARADA, E. (1997). Simplified preparation of a refined milk formula comparable to rat's milk: influence of the formula on development of the gut and brain in artificially reared rat pups. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 24(3): 242-52.

14. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. (1998). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/BRASILFOODS. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos-USP. Disponível em: <http://www.tbca.net.br>

15. INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. (2005). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª ed. Brasília: ANVISA, 1018 p.

16. OLIVEIRA, E.; PINHEIRO, C. R.; SANTOS-SILVA, A. P.; TREVENZOLI, I. H.; ABREU-VILLACA, Y.; NOGUEIRA NETO, J. F.; LISBOA, P. C. (2010). Nicotine exposure affects mother's and pup's nutritional, biochemical, and hormonal profiles during lactation in rats. **Journal of Endocrinology** 205(2): 159–170.

17. MESSIAS, G. C.; ROCHA, A. M. N.; SANTOS, B. M. S.; BOTELHO, A. M.; SILVA, D. C. A.; PORTO, E. S.; YATSUDA, R. (2018). Administration of *Lactobacillus plantarum* Lp62 to dam rats at the end of delivery and during lactation affects TGF- β 1 level and nutritional milk composition, and body weight of pups. **European Journal of Nutrition**. doi:10.1007/s00394-018-1628-y

18. BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. (1968). Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **J Endocrinol**. 40(4): 527-8.