



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Vanessa de Souza Mello

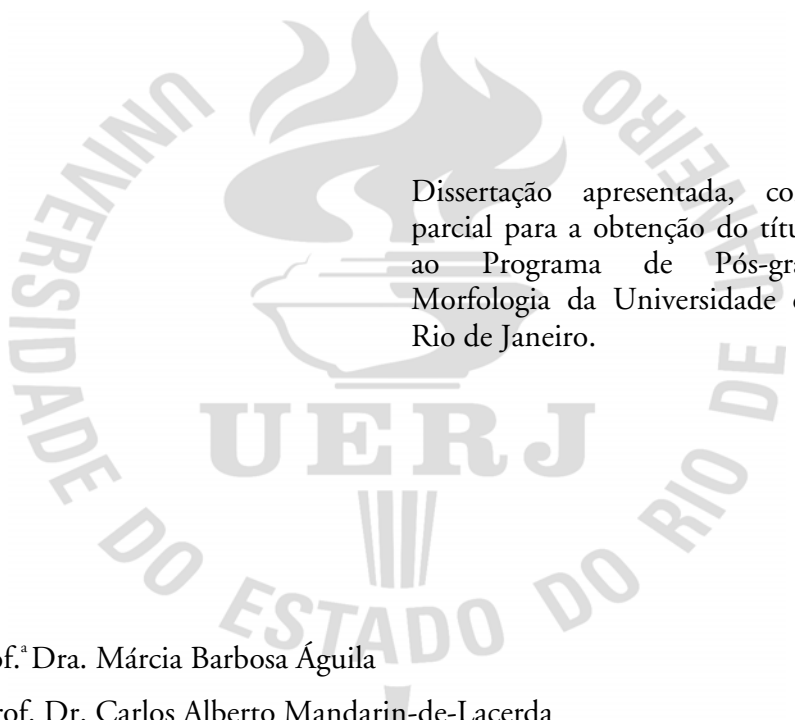
Restrição protéica materna associada à dieta hiperlipídica pós-natal
altera a estrutura hepática na prole adulta

Rio de Janeiro

2007

Vanessa de Souza Mello

**Restrição protéica materna associada à dieta hiperlipídica pós-natal
altera a estrutura hepática na prole adulta**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Morfologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Márcia Barbosa Águila

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarin-de-Lacerda

Rio de Janeiro

2007

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CB/A

M527 Mello, Vanessa de Souza.

Restrição protéica materna associada à dieta herlipídica pós-natal altera a estrutura hepática na prole adulta / Vanessa de Souza Mello. – 2007.
102 f. : il.

Orientadora: Márcia Barbosa Águila.

Coorientador: Carlos Alberto Mandarin-de-Lacerda.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Fígado gorduroso – Aspectos nutricionais – Teses. 2. Desenvolvimento fetal – Teses. 3. Gorduras na dieta – Teses. 4. Estereologia – Teses. 5. Doenças crônicas – Aspectos nutricionais – Teses. 6. Rato como animal de laboratório – Teses. I. Águila, Márcia Barbosa. II. Mandarin-de-Lacerda, Carlos Alberto. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 616.391

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Vanessa de Souza Mello

**Restrição protéica materna associada à dieta hiperlipídica pós-natal
altera a estrutura hepática na prole adulta**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Morfologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 16 de janeiro de 2007.

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Márcia Barbosa Águila (Orientadora)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Porto
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof.^a Dra. Glorimar Rosa
Departamento de Nutrição e Dietética – UFRJ

Rio de Janeiro

2007

DEDICATÓRIA

Aos meus pais.

Aos meus orientadores.

À equipe do LMMC.

A todos que acreditam e colaboram para o desenvolvimento e aprimoramento da pesquisa científica no Brasil.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus caminhos e permitir o cumprimento de mais essa etapa.

Aos meus pais, pelo incentivo constante na realização dos meus ideais, pelo carinho, amor e dedicação incomensuráveis.

Aos meus orientadores, Prof^a Dr^a Márcia Barbosa Águila e prof. Dr. Carlos Alberto Mandarimde-Lacerda, por acreditarem no meu trabalho, pelas incontáveis horas de dedicação, pela atenção e apoio em todas as etapas do projeto e por estarem presentes ativamente numa das fases mais importantes da minha vida.

A todos os componentes do LMMC, por tornarem o ambiente de trabalho agradável e por compartilharem todos os momentos, em especial à incrível turma de Avanços em Morfofisiologia cardiovascular.

À minha amiga de longa data Bianca pelo apoio em todas as fases do projeto e à amiga Fernanda por toda a assistência e por ceder 5 “filhas” para o meu projeto.

À inesquecível equipe sacrifício, a qual não funcionaria sem as contribuições dos “professores” Caroline, Geraldo, Leonardo e Thiago (nunca esquecerei da ajuda de vocês nos momentos mais tensos).

À Thatiany Marinho, pela diversão garantida nos momentos de “folga”, pela microtomia perfeita, dedicação e atenção em todos os momentos que precisei.

Aos meus ICs honorários Fernanda Ornellas, Emília Magalhães e Daniel Oliveira pelas horas dedicadas a esse trabalho. Ao meu amigo Rodrigo, pela confiança, incentivo e pelos momentos de descontração e à amiga de turma Lyana pela amizade que surgiu meses antes da prova de ingresso no mestrado e pelo apoio mútuo ao longo do curso.

Ao meu amigo André por estar presente em todos os momentos marcantes da minha vida, por me escutar sempre e pela companhia constante.

À minha primeira orientadora e amiga Édira por ter despertado em mim o gosto pela pesquisa, pelo incentivo exagerado na continuidade da minha vida acadêmica e pela presença constante na minha vida mesmo após a graduação.

Às minhas amigas Aline, Érica, Samira e Tatiane pelo apoio e compreensão nos momentos importantes em que estive ausente.

“Last but not least”, aos meus professores e amigos Robin e Samuel e à minha amiga Érika por fazerem meu inglês se tornar realmente proficiente.

Para descobrir caminhos, é necessário sair dos trilhos.

Albert Einstein

RESUMO

MELLO, Vanessa de Souza. *Restrição protéica materna associada à dieta hiperlipídica pós-natal altera a estrutura hepática na prole adulta*. 2007. 102 f. Dissertação (Mestrado em Morfologia) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

A restrição protéica neonatal promove alterações metabólicas, estruturais e morfológicas em diversos órgãos. O tipo de dieta pós-natal pode agravar esse quadro. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da dieta com alta densidade energética (ADE) pós-natal sobre os parâmetros morfológicos hepáticos de ratos Wistar submetidos à restrição protéica neonatal. Fêmeas Wistar foram divididas em dois grupos nutricionais: normoprotéico (NP-19% proteínas) e com restrição protéica durante a gestação e primeira metade da lactação (LP-5% de proteínas). Ambas as dietas seguiram recomendações da AIN-93 (Rhooster_). Ao desmame, os filhotes foram subdivididos em oito grupos, de acordo com o tipo de dieta pós-natal (SC - ração padrão ou HF – dieta ADE): a) macho NP-SC; b) fêmea NP-SC; c) macho NP-HF; d) fêmea NP-HF; e) macho LPSC; f) fêmea LP-SC; g) macho LP-HF e h) fêmea LP-HF. A aferição da massa corporal e da pressão arterial foram feitas semanalmente. Aos 6 meses de idade, os animais sofreram eutanásia. O fígado foi retirado após perfusão e teve seu volume aferido pelo método de Scherle. Para fins estatísticos utilizou-se análise de variância e teste de comparações múltiplas de Neuman-Keuls ($p < 0,05$). A dieta ADE foi eficaz ao induzir sobrepeso nos grupos NP-HF de ambos os sexos aos 77 dias ($p < 0,001$). Aos 112 dias as fêmeas LP-HF apresentaram sobrepeso em relação às fêmeas LP ($p < 0,05$) demonstrando que os fatores ambientais podem maximizar os efeitos da restrição protéica neonatal. Entretanto, em machos essa interação não foi observada. No que concerne às alterações hepáticas, a restrição protéica resultou em redução do número de hepatócitos em ambos os gêneros ($p < 0,01$), com efeito adicional da dieta ADE apenas nos machos ($p < 0,01$). Ademais, o insulto sofrido no período neonatal promoveu uma predisposição ao acúmulo de triglicerídeos hepáticos nos grupos RP ($V_v = 15\%$), configurando um quadro de esteatose ($p < 0,01$). A dieta ADE acentuou essa alteração, com os grupos RP-ADE alcançando níveis superiores a 33% de esteatose ($p < 0,001$). Tanto a restrição protéica neonatal quanto a dieta ADE pós-desmame de forma isolada promoveram HAS leve aos 3 meses, redução do número de hepatócitos e esteatose grau 1 aos 6 meses de idade. Quando os dois estímulos foram aplicados simultaneamente, foi observada uma exacerbação do quadro hipertensivo, do déficit de hepatócitos e esteatose grau 2. Essas constatações ratificam a importância das condições intra-uterinas e da qualidade da dieta pós-natal na gênese de doenças crônicas.

Palavras-chave: Restrição protéica materna. Dieta hiperlipídica. Esteatose hepática. Ratos

ABSTRACT

Neonatal protein restriction has been associated with metabolic, structural and morphological adaptations in diverse organs. The type of postnatal diet can further exacerbate these outcomes. The present work aimed at evaluating the effects a postnatal hyperlipidic diet exerts on hepatic morphological parameters of rats subjected to perinatal protein restriction. Virgin female Wistar were divided into 2 groups: normal protein (NP) and low protein (LP). NP dams received standard diet for pregnant rats (AIN-93/Rhoster_- 19% protein) during the whole pregnancy and first half lactation, whereas LP dams had free access to a isocaloric diet lacking the recommended amount of protein (5% protein) for the same period. At weaning, offspring were assigned to one of the 8 nutritional groups according to the diet they will receive (SC – standard chow or HF – high fat): a) male NP-SC; b) female NP-SC; c) male NP-HF; d) female NP-HF; e) male LPSC; f) female LP-SC; g) male LP-HF e h) fêmea RP-ADE. Body mass and blood pressure were measured weekly until 6 months, when euthanasia occurred. Liver was carefully dissected and had its volume determined through Scherle's method. Analysis of variance (ANOVA) and post-hoc test of Bonferroni were used to test differences among the groups ($p < 0,05$). The HF diet provoked overweight in NP-HF groups from both genders on day 77 ($p < 0,001$). However, LP-HFC groups showed a delayed response and sexual dimorphism, as only females developed overweight on day 112 ($p < 0,05$). As for hepatic alterations, protein restriction resulted in hepatocyte deficit in both genders ($p < 0.01$), existing an additional shift from HF diet exclusively in males ($p < 0.01$). Furthermore, higher steatosis rates were found in protein restricted animals ($V_v = 15\%$, $p < 0.01$), having the post-weaning HF diet an additional effect on this outcome in LP-HF ($V_v > 33\%$, $p < 0.001$). Fetal programming and HF diet as single stimulus caused mild hypertension at 3 months, an important reduction in hepatocyte number as well as stage 1 steatosis at 6 months. However, when both stimuli were applied simultaneously, hypertension and hepatocyte number deficit were worsened and grade 2 steatosis occurred. All of these serve to highlight the paramount importance of intrauterine conditions and postnatal diet quality when it comes to the pathogenesis of chronic diseases.

Keywords: maternal protein restriction. High-fat diet. Hepatic steatosis. Rats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Insultos e alterações que conduzem à programação fetal	06
Figura 02	Efeitos da desnutrição fetal no crescimento e maturação dos diferentes órgãos	07
Figura 03	Mecanismos propostos para a programação fetal da HAS	11
Figura 04	Mecanismos que conduzem à HAS em roedores alimentados com dieta ADE	22
Figura 05	Eixo adipoinsular	24
Figura 06	Ilustração esquemática do método do disector óptico	41
Figura 07	Ingestão calórica das progenitoras	43
Figura 08	Ganho ponderal materno	43
Figura 09	Ingestão protéica materna	44
Figura 10	Evolução da massa corporal do 1º ao 6º mês / fêmeas	46
Figura 11	Evolução da massa corporal do 1º ao 6º mês / machos	47
Figura 12	Evolução da pressão arterial sistólica	48
Figura 13	Número de hepatócitos por unidade de massa hepática	54
Figura 14	Esteatose hepática e binucleação de hepatócitos	56
Figura 15	Densidade de volume de esteatose hepática	56
Figura 16	Taxa de binucleação de hepatócitos	57
Figura 17	Área transversa de hepatócitos	57

LISTA DE TABELA

Tabela 01	Características químicas das dietas empregadas na gestação & lactação	33
Tabela 02	Características químicas das dietas ADE e padrão	35
Tabela 03	Distribuição dos grupos de estudo	36
Tabela 04	Resultados biométricos, bioquímicos e estereológicos	50
Tabela 05	Perfil lipídico	51
Tabela 06	Provas de função hepática	52

LISTA DE ABREVIATURAS

ADE	Alta densidade energética
AG	Ácido graxo
AGL	Ácidos graxos livres
AGS	Ácidos graxos saturados
AGT	Ácidos graxos trans
AT	Área teste
AT	Área transversa
Bax	Proteína X associada à Bcl-2
Bcl-2	“b-cell lymphoma protein 2”
[Bin]	Binucleação
CE	Células estreladas
CNA	Comprimento nasoanal
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doenças cardiovasculares
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucléico
e	Espessura do disector
FA	Fosfatase alcalina
GGT	Gama glutamil transpeptidase
GK	Glicoquinase
[h]	Hepatócitos
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HF	High fat
[hn]	Núcleos de hepatócitos
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina – tipo 1
IGFBPs	Proteína ligante do fator de crescimento semelhante à insulina
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LP	Low protein
MC	Massa corporal
MEC	Matriz extracelular

N	Número total
NAFLD	Doença não alcoólica do fígado gorduroso
NASH	Esteatohepatite não alcoólica
NP	Normal protein
Nv	Densidade de número
Ob-R	Receptor da leptina
ON	Óxido nítrico
PA	Pressão arterial
PAS	Pressão arterial sistólica
PEPCK	Fosfoenolpiruvato carboxiquinase
PP	Pontos parciais
PPAR	Receptor ativador de proliferação peroxissomal alfa (PPAR – peroxissome proliferator-activated receptor)
PPAR	Receptor ativador de proliferação peroxissomal gama (PPAR – peroxissome proliferator-activated receptor)
PT	Pontos totais
Q--	Densidade de perfis no plano de referência
QA	Densidade de perfis por área
SC	Standard chow
SM	Síndrome metabólica
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
[St]	Esteatose
TGO	Transaminase oxalacética
TGP	Transaminase pirúvica
TNF	Fator de necrose tumoral
VFíg	Volume do fígado
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
Vv	Densidade de volume

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
1 OBJETIVOS	3
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Programação fetal	4
2.2 Dietas de alta densidade energética (ADE)	17
2.3 Alterações hepáticas secundárias a dietas ADE ou programação fetal	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Animais & dieta	32
3.2 Massa corporal & ingestão alimentar	35
3.3 Pressão arterial	36
3.4 Eutanásia e obtenção do material para análise bioquímica	36
3.5 Estereologia do fígado	38
3.6 Análise estatística	41
4 RESULTADOS	43
4.1 Progenitoras	43
4.2 Filhotes	44
4.3 Biometria	45
4.4 Quantificação estereológica	53
5 DISCUSSÃO	58
6 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS	71
ANEXO	86

Introdução

As doenças cardiovasculares (DCV) constituem a principal causa de morte no mundo e lideram os orçamentos destinados a programas de saúde (WHO, 2002). Este fato coincide com o aumento da prevalência global de obesidade, concomitante ao declínio da mortalidade por doenças infecto-contagiosas, fenômeno designado por transição nutricional (Popkin, 2001).

Sendo a obesidade um dos principais fatores de risco para DCV e a sua presença um fator predisponente para o desenvolvimento de doenças crônicas associadas, evidencia-se um aumento concomitante da prevalência da síndrome metabólica (SM) na população mundial. Esta se manifesta como uma constelação de anormalidades metabólicas que inclui: aumento da circunferência abdominal, hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia e intolerância à glicose. Considerando-se a gama de alterações metabólicas resultantes dessa síndrome, a comunidade científica vem buscando incessantemente esclarecer suas bases fisiopatológicas (NIH, 1998; Mokdad et al., 2001; Eckel et al., 2005).

No que tange à etiologia da SM, apesar desta não estar completamente elucidada, sua multifatorialidade é consensual. Nesse sentido, evidências epidemiológicas e experimentais sugerem que fatores perinatais também desempenham um papel ímpar na sua gênese (Prentice, 2001; Srinivasan et al., 2003; Remacle et al., 2004). A partir da hipótese do fenótipo econômico, postula-se que frente à escassez de nutrientes, hominídeos

sofreram alterações na estrutura, metabolismo e fisiologia de órgãos importantes, as quais eram pertinentes àquela época, considerando-se a abreviada expectativa de vida e a restrição de alimentos inerente ao ambiente pós-natal. Entretanto, a partir do neolítico, a maior disponibilidade de alimentos aliada ao aumento progressivo da expectativa de vida corroboraram para o incremento alarmante na incidência de sobrepeso observado neste novo milênio. Conseqüentemente, as estratégias adaptativas que garantiram a sobrevivência de nossos antepassados, conhecidas em conjunto como programação fetal, vêm sendo apontadas como a causa mais plausível da pandemia de doenças crônicas no mundo moderno. No entanto, esta realidade não pode ser creditada somente aos excessos alimentares atuais, pois a diferença relativa das condições nutricionais entre o ambiente pré-natal e pós-natal parece ser imperativa na determinação do risco de doenças crônicas ao longo da vida (Gluckman e Hanson, 2004; Das, 2005; Simmons, 2005).

Nesse contexto, a administração de dieta hiperenergética após o desmame de animais que sofreram restrição protéica perinatal, mimetizando o alto consumo lipídico das populações ocidentais, vem sendo relacionada à amplificação das alterações impostas pelo retardo no crescimento intra-uterino (Vickers et al., 2000; Vickers et al., 2001). Dentre os órgãos afetados pelo ambiente perinatal adverso, o fígado emerge como um dos principais órgãos afetados, em prol do desenvolvimento adequado de órgãos considerados mais nobres como o cérebro (Barker e Clark, 1997; Hoppin, 2004). Por outro lado, a ingestão

excessiva de lipídios, principalmente de ácidos graxos trans (AGT) e ácidos graxos saturados (AGS), predispõe ao desenvolvimento da resistência à insulina e da esteatose hepática e esta última vem sendo descrita como manifestação hepática da SM (Grundy et al., 2002; Alberti et al., 2005; Haag e Dippenaar, 2005).

Considerando-se a predisposição à manifestação da SM em proles que sofreram restrição protéica, faz-se pertinente um estudo sobre a repercussão da administração crônica de dieta de alta densidade energética sobre a morfologia hepática de ratos programados por restrição protéica perinatal.

Objetivos

- Induzir sobrepeso com dieta com alta densidade energética (ADE) em ratos Wistar que sofreram restrição protéica perinatal.
- Estudar a morfologia do fígado de ratos Wistar, machos e fêmeas, que receberam dieta ADE somada a restrição protéica perinatal.
- Comparar os resultados entre os grupos para avaliar os efeitos de dieta ADE pós-desmame somada à restrição protéica perinatal sobre o parâmetro morfológico/quantitativo para o fígado.
- Estudar os efeitos da restrição protéica perinatal e/ou dieta ADE pós-desmame sobre a pressão arterial de ratos.

REVISÃO DE LITERATURA

Programação fetal

Por definição, “*imprinting*” ou programação fetal é um fenômeno pelo qual um estímulo ou insulto sofrido durante um período crítico do desenvolvimento resulta em alteração da trajetória de crescimento de órgãos chave do metabolismo, produzindo alterações metabólicas, fisiológicas e morfológicas permanentes. A princípio, tais adaptações são benéficas, pois garantem a sobrevivência momentânea do feto. Contudo, seus efeitos em longo prazo são irreparáveis e irreversíveis, sendo observados na vida adulta mesmo na ausência do estímulo desencadeante do mecanismo adaptativo (Lucas, 1991; Barker, 1994, 1995; Barker e Clark, 1997).

Os ditos períodos críticos de desenvolvimento coincidem com períodos de rápida divisão celular. Dessa forma, a falta de oxigênio, nutrientes ou concentrações alteradas de hormônios anabólicos como a insulina ou o hormônio do crescimento nesses períodos resultam em redução da velocidade da taxa de divisão celular, especialmente nos órgãos que estão passando pelo seu momento crítico de divisão e diferenciação. Esse retardo no processo de divisão celular resulta em redução do número de células de alguns órgãos, modificações de “*feedbacks*” hormonais, alterações estruturais e metabólicas. A partir da programação, o ambiente pré-natal ou as condições encontradas na primeira infância modelam o controle da homeostase e fisiologia tecidual, prejudicando a função de

determinados órgãos e predispondo às doenças crônicas na vida adulta (Barker e Clark, 1997; Barker, 1998; Godfrey e Barker, 2000; Barker, 2002; Langley-Evans, 2006). A Figura 1 ilustra os principais efeitos resultantes da programação fetal.

As primeiras evidências desse fenômeno advêm de estudos retrospectivos de caráter epidemiológico na Inglaterra, a partir dos quais foram feitas as primeiras associações entre o baixo peso ao nascer e a ocorrência de doenças cardiovasculares na vida adulta. O estudo pioneiro constatou associação entre elevadas taxas de mortalidade infantil no início do século XX e aumento correspondente das taxas de mortalidade por doença arterial coronariana (DAC) 70 anos depois no norte e oeste ingleses, regiões mais pobres que o sul do país (Barker e Osmond, 1986). Este padrão geográfico na distribuição da prevalência de DAC na Inglaterra serviu para associar baixo peso ao nascer com ocorrência de DAC na vida adulta (Barker et al., 1993). Um estudo de coorte clássico foi o de Hertfordshire, a partir da qual foi constatado o dobro do risco de DAC em crianças com baixo peso ao nascer quando comparadas com as mais pesadas (Osmond et al., 1993).

Diversos paradigmas vêm sendo empregados visando à obtenção de modelos experimentais viáveis. Dentre esses, destacam-se a exposição da mãe a dietas isoenergéticas restritas em proteína durante a gestação e/ou lactação; restrição energética global durante o mesmo período; superexposição do feto a glicocorticóides e restrição do fluxo sanguíneo uterino por ligação da artéria uterina. Todos exibem como característica

comum o fato de que promovem a desnutrição fetal, pois o suprimento de nutrientes para o feto fica aquém da sua demanda para um crescimento e desenvolvimento compatíveis com sua idade gestacional. Dessa forma, vêm demonstrando eficácia ao determinar uma relação inversa entre peso ao nascer e presença de DCV na vida adulta (Bertram e Hanson, 2001; Ozanne, 2001).

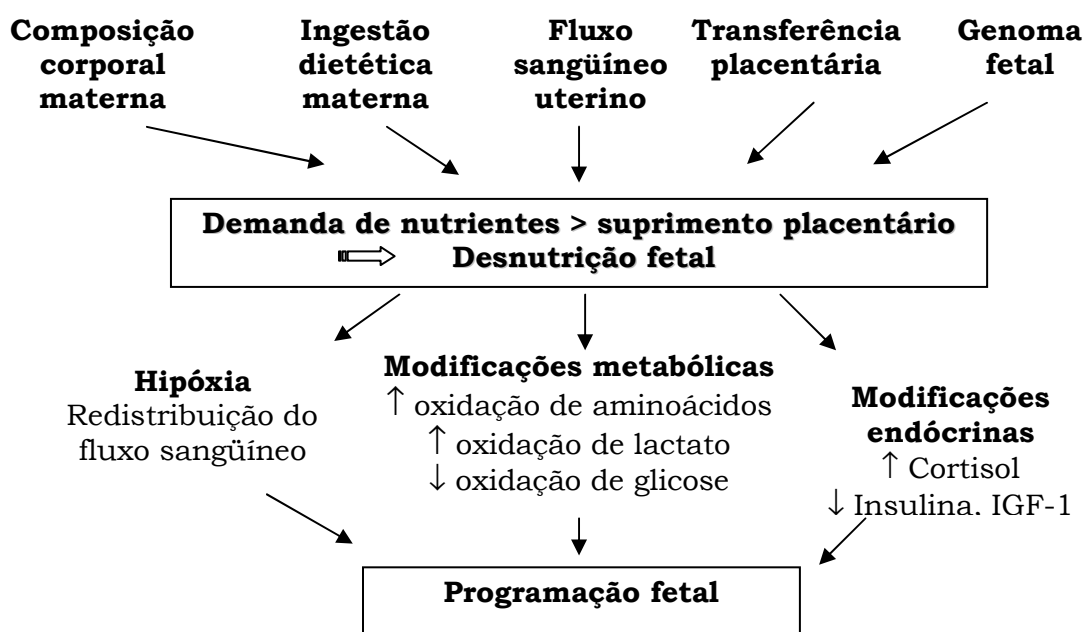


Figura 1 – Insultos e alterações que conduzem à programação fetal (Godfrey e Barker, 2001).

No que tange à morfologia, as repercussões da programação fetal sobre a estrutura e função dos diversos órgãos são de extrema importância. A literatura postula que a programação aumenta o risco de DCV à medida que promove um declínio mais acelerado que o normal da capacidade

funcional do órgão ao longo da vida, antecipando o aparecimento de doenças crônicas tais como HAS e diabetes mellitus tipo 2 (DM2). A capacidade funcional de um órgão é determinada pelo número e tipo de células presentes ou pelas estruturas funcionais atuantes neste. Nesse sentido, já está bem documentado a redução do número de néfrons, cardiomiócitos e da massa de células β -pancreáticas ao nascimento em roedores submetidos à restrição protéica pré-natal e/ou pós-natal, as quais implicam diretamente o desenvolvimento de HAS (Ingelfinger e Woods, 2002; Langley-Evans et al., 2003), DAC (Corstius et al., 2005) e DM2 (Garofano et al., 1999), respectivamente. A Figura 2 proporciona uma visão global dos efeitos adaptativos e conseqüências deletérias da programação em vários órgãos.

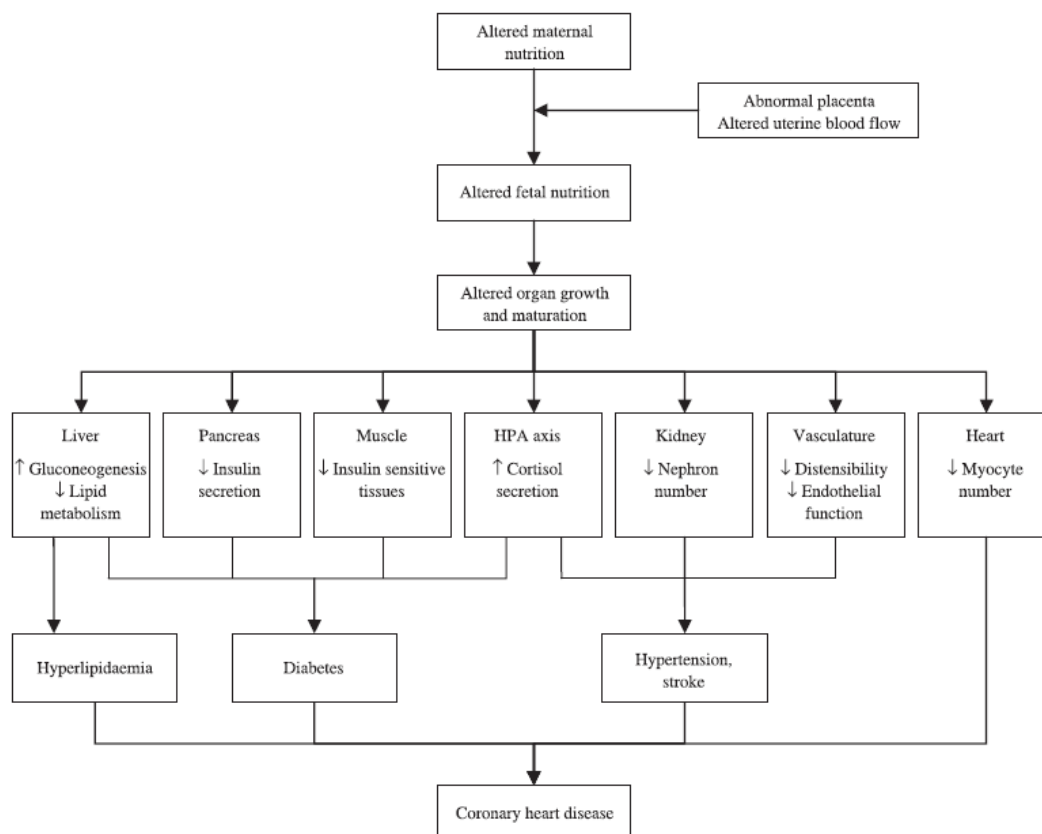


Figura 2 - Efeitos da desnutrição fetal no crescimento e maturação dos diferentes órgãos (de Boo e Harding, 2006).

Uma das conseqüências mais estudadas da programação fetal é seu papel na determinação da HAS, doença multifacetada que acomete mais que $\frac{1}{4}$ da população mundial e é considerado o principal fator de risco para DCV (Staessen et al., 2003; Kaplan e Opie, 2006). Atualmente, a literatura é consensual ao associar a tríade desnutrição materna versus baixo peso ao nascer versus HAS na vida adulta. Em 1994, Barker e colaboradores estabeleceram a seguinte relação: cada 1 Kg de redução no peso ao nascer promove um aumento de 6 mmHg na PAS aos 60 anos (Barker, 1994; Godfrey et al., 1994).

Estudos experimentais demonstram que a intensidade da restrição protéica, o gênero e o período do insulto são fatores determinantes. Nesse contexto, a restrição protéica moderada (de 9%) programa HAS apenas em machos, com um aumento da PAS (pressão arterial sistólica) de 10mmHg em média, enquanto restrições mais intensas afetam ambos os gêneros (Langley-Evans et al., 1999; Vehaskari et al., 2001; Woods et al., 2001; Woods et al., 2005). Em relação ao período de manipulação da dieta, ratos restritos durante o período da nefrogênese (terceiro semestre da gestação e primeira metade da lactação) apresentam redução do número de néfrons mais expressiva (Woods et al., 2001). Em contrapartida, aqueles restritos apenas no início da gestação, exibem morfologia renal normal e são normotensos ou moderadamente hipertensos (Langley-Evans et al., 1996).

Um mecanismo proposto para explicar as observações acima apresenta relação direta com a nefrogênese, evento que ocorre em roedores tanto no período pré-natal quanto no início da lactação (até o 10º dia). Caracteriza-

se como um processo que envolve remodelamento contínuo e apoptose. A restrição protéica durante o referido período conduz à nefrogênese deficitária em roedores por dois mecanismos distintos. O primeiro envolve a hipometilação do gene p53. Esta resulta em expressão elevada de proteína Bax (pró-apoptótica) associada à expressão reduzida da Bcl-2 (anti-apoptótica) e a conseqüente ativação do mecanismo apoptótico por meio caspase 3 (efetora), resultando em redução do número de néfrons (Welham et al., 2002). Vehaskari e colaboradores encontraram associação entre redução no número de néfrons e altas taxas de apoptose e proliferação celular após restrição protéica neonatal em ratos (Vehaskari e Woods, 2005).

O segundo mecanismo envolve a supressão do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) fetal. A importância do SRAA na vida intra-uterina reside no fato de que ele possui atividade não só na arteríola aferente, mas também em outras regiões, sendo crucial ao desenvolvimento morfológico e fisiológico renal. Sua supressão em gestações restritas em proteína parece ser secundária à exposição dos tecidos fetais a quantidades exageradas de cortisol ou corticosterona maternas, o que resulta na inibição do SRAA intra-renal e o conseqüente decréscimo no número de néfrons (Woods e Rasch, 1998; Vehaskari et al., 2001; Woods et al., 2001; Rasch et al., 2004).

Essa redução do número de unidades funcionais favorece o desenvolvimento da HAS, à medida que na tentativa de compensar a menor área de superfície de filtração glomerular e de corrigir a retenção de

sódio resultante desta, o organismo desenvolve um mecanismo de hipertrofia glomerular e hiperfiltração (aumento da taxa de filtração glomerular) compensatórios. Dessa forma, excreções normais de sódio e água são obtidas à custa da elevação da PA (pressão arterial). Em longo prazo, a HAS conduz à elevação da pressão do capilar glomerular e glomeruloesclerose, o que promove redução adicional da área de filtração funcional, acentua o quadro de HAS pré-existente e aumenta o risco de doença renal crônica (Woods e Rasch, 1998; Woods et al., 2001; Grisk e Rettig, 2004). A Figura 3 apresenta o mecanismo descrito acima de forma esquemática.

Além do mais, a associação entre número de néfrons e HAS é muito evidente também em humanos, justificando a relevância dos modelos experimentais. Em 1988 foi proposta pela primeira vez a associação entre redução do número de néfrons e desenvolvimento de hipertensão essencial (Brenner et al., 1988). Essa hipótese foi confirmada utilizando-se técnicas estereológicas tridimensionais ou a combinação do disector físico/fractionator, a partir das quais indivíduos hipertensos apresentaram déficits de néfrons da ordem de 50% em média (Hughson et al., 2003; Keller et al., 2003). Todos esses trabalhos culminaram com o estabelecimento de uma relação direta entre número de néfrons e peso ao nascer em humanos, sendo postulado aumento em torno de 250.000 néfrons/rim a cada 1000g a mais no peso ao nascer, dado que cada rim tem em torno de 1.000.000 de unidades funcionais (Hoy et al., 2003; Hughson et al., 2003; Hoy et al., 2005). Um dado interessante desses

estudos foi a observação de que inicialmente não há alteração da área de filtração glomerular total em indivíduos com retardo de crescimento intra-uterino devido ao aumento do volume glomerular, corroborando com os achados de estudos experimentais (Manalich et al., 2000; Hoy et al., 2003).

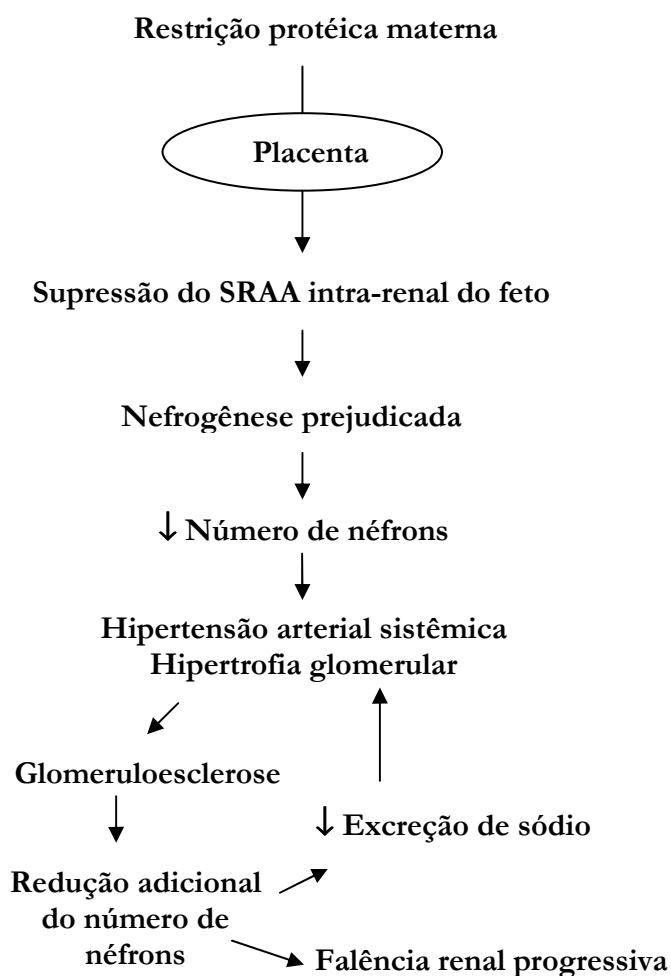


Figura 3 – Mecanismos propostos para a programação fetal da HAS (adaptado de Woods et al, 2001).

Adicionalmente, estudos recentes atribuem a HAS programada por restrição protéica ao prejuízo do relaxamento vascular dependente de óxido nítrico (ON) em animais experimentais (Brawley et al., 2003). Logo, a reduzida biodisponibilidade do ON resultante do insulto sofrido durante a organogênese, aliada ao aumento do estresse oxidativo e disfunção vascular representam uma nova contribuição para as raízes fetais da etiologia da HAS (Franco Mdo et al., 2002).

Mais recentemente, foi observado que o ambiente pós-natal na maioria das vezes contrasta com o ambiente hostil que desencadeou as adaptações que garantiram a sobrevivência do feto em períodos de extrema vulnerabilidade. Sendo assim, foi constatado que indivíduos com risco mais elevado para o desenvolvimento de determinada doença são aqueles que cursam com uma predisposição genética, foram expostos a condições adversas no período fetal e apresentam um estilo de vida sedentário e hábitos alimentares errôneos (Woodall et al., 1996; Stern et al., 2000).

A partir dessas observações, e em consonância com a teoria da programação fetal, a hipótese do fenótipo econômico vem sendo proposta como um conceito adicional e igualmente importante. A literatura postula que a restrição protéica perinatal resulta em baixo peso ao nascer, o que vem sendo relacionado com uma maior eficiência do organismo na metabolização, utilização e armazenamento de nutrientes, sendo vantajoso caso a restrição seja mantida no ambiente pós-natal. Contudo, na vigência de condições de nutrição adequadas na vida extra-uterina, ou ainda na presença de uma alimentação excessiva, essa maior eficiência metabólica

favorecerá um estoque dos substratos como excesso de gordura principalmente na região abdominal. Esse último apresenta relação estreita com a resistência à insulina e, conseqüentemente, aumenta o risco de SM (Hales e Barker, 2001b; Yajnik, 2004). Ressalta-se que, ainda que o indivíduo nasça num ambiente tão hostil quanto o pré-natal, essas características são ditas transgeracionais e poderão acometer alguns de seus descendentes conforme a prosperidade da época (Zambrano et al., 2005; Fernandez-Twinn e Ozanne, 2006).

O fenótipo econômico apresenta estreita relação com o genótipo econômico, teoria proposta em 1962 que relata a ocorrência de uma seleção natural de genes durante os milhares de anos marcados por alimentação intermitente como determinante de um perfil metabólico econômico compatível com a sobrevivência em tais situações. Logo, a epidemia de DM2 só emergiu porque a disponibilidade de alimentos se tornou excessiva em relação ao dispêndio de energia, conduzindo à obesidade. Tanto a produção deficiente de insulina quanto a resistência à ação deste hormônio têm importância ímpar na gênese do DM2. Dessa forma, evidências epidemiológicas mostram que adultos que nasceram com baixo peso apresentam alta prevalência de SM. Uma coorte feita em Preston (Inglaterra) revelou que para cada valor de massa corporal na vida adulta, a resistência à insulina foi maior naqueles que tinham o menor índice ponderal ao nascer, sendo a maior resistência registrada nos indivíduos que apresentaram maior ganho ponderal ao longo da vida (Barker et al., 1993; Phillips et al., 1994; Bertram e Hanson, 2001).

Evidências experimentais confirmam os achados epidemiológicos, à medida que demonstram uma ação direta da restrição protéica durante o período da organogênese (até a metade da lactação) na diferenciação pancreática e no comprometimento do pâncreas endócrino. Esses animais cursam com redução do número e da vascularização de células β -pancreática e desenvolvem DM2 em longo prazo, já que não há expansão da massa pancreática e taxas elevadas de apoptose aumentam o déficit funcional do órgão desses animais (Garofano et al., 1997; Garofano et al., 1999; Petrik et al., 1999; Merezak et al., 2001; Holemans et al., 2003).

Por mais que a restrição protéica perinatal resulte em redução da massa de células β -pancreáticas e reduzida capacidade funcional para a secreção de insulina, os animais restritos apresentam maior sensibilidade à insulina no início da vida devido a um maior número de receptores desse hormônio. Por conseguinte, caso a restrição alimentar continue sendo imposta no ambiente pós-natal, o controle glicêmico adequado será mantido (Holness, 1996; Shepherd et al., 1997; Holness et al., 1999). Por outro lado, na vigência de condições nutricionais satisfatórias, o crescimento pós-natal acelerado (“*catch-up growth*”) determinará resistência à ação da insulina à medida que proles restritas apresentam deterioração mais rápida da tolerância à glicose com a idade. No entanto, esta deterioração parece ser antecipada pela presença de fatores ambientais como balanço energético positivo, sedentarismo e obesidade (Hales e Barker, 2001a; Ozanne e Hales, 2002a; Aerts e Van Assche, 2003; Hales e Ozanne, 2003).

Nesse contexto, a resistência à insulina vem sendo considerada como fator central no desencadeamento da SM, também conhecida como síndrome da resistência à insulina. Esta alteração metabólica pode ser definida como um estado onde concentrações normais desse hormônio não promovem a resposta biológica esperada, seja por uma inativação dos receptores insulínicos, por redução do seu número ou por interação inadequada hormônio-receptor (Ginsberg, 2000; Bloomgarden, 2002). Portanto, para garantir a homeostase da glicose no organismo, as células β -pancreáticas desencadeiam um processo de superprodução de insulina, gerando hiperinsulinemia compensatória. Em longo prazo, a falência pancreática ocorre (Berney et al., 1997).

Mecanismos plausíveis em animais programados metabolicamente para o desenvolvimento da resistência à insulina são: taxa reduzida de glicólise e da via glicolítica para produção de ATP durante exercícios. Em resposta à desnutrição, os tecidos fetais reduzem sua dependência metabólica à glicose, aumentando a oxidação de outros substratos incluindo aminoácidos e lactato. Esse metabolismo poupador de glicose persiste na vida adulta e a resistência à insulina tem origem a partir de reduzidas taxas de oxidação de glicose em tecidos periféricos sensíveis a esse hormônio. Outros efeitos que não podem ser descartados estão relacionados à redução captação de glicose estimulada por insulina nos adipócitos em paralelo a um aumento da gliconeogênese hepática, favorecendo acúmulo de gordura. (Desai et al., 1997; Holness et al., 1999; Bloomgarden, 2002; Holemans et al., 2003).

O ambiente próspero pós-natal é importante também na associação entre a desnutrição fetal e o excesso de peso na vida adulta. Nesse sentido, a alimentação nos primeiros anos de vida é particularmente importante. A coorte de Hertfordshire revelou também que crianças que desenvolveram DM2 eram pequenas ou magras ao nascimento e mantiveram baixas taxas de crescimento na infância. Contudo, a partir dos 7 anos de idade tiveram crescimento acelerado em massa corporal e estatura e chegaram aos 15 anos acima da média do índice de massa corporal para a idade (Hales et al., 1991). O ganho ponderal acelerado vem sendo associado a uma maior demanda metabólica num organismo com capacidade funcional limitada frente ao reduzido número de células, antecipando e agravando as alterações resultantes do ambiente pré-natal adverso (Bieswal et al., 2006).

Isso foi comprovado recentemente num estudo experimental que relacionou a programação fetal com a longevidade. Os animais com menor expectativa de vida foram justamente os restritos em proteína durante a gestação e que apresentaram o crescimento acelerado durante a lactação ao serem amamentados por lactantes normoprotéicas, chegando à vida adulta com sobrepeso. Em contrapartida, os animais restritos que continuaram a enfrentar um ambiente pós-natal adverso viveram mais que os animais controle, ressaltando os benefícios da programação, dado que o organismo se prepara para um ambiente pós-natal similar ao intra-uterino (Ozanne e Hales, 2004; Ozanne e Nicholas Hales, 2005). Outro procedimento muito comum em roedores é a redução do tamanho da

ninhada durante a lactação e a conseqüente programação da hiperfagia na vida pós-natal. Desequilíbrios hormonais dos centros de fome e saciedade, conduzindo à hiperfagia, constituem mecanismos plausíveis para explicar o baixo peso ao nascer como fator preditor da obesidade andróide na vida futura (Cripps et al., 2005; McMillen et al., 2005).

Além de corroborarem com o conceito do fenótipo econômico, essas observações podem ser notadas no mundo atual, sendo que uma nova transição está preste a acontecer. Cientistas prevêem que o futuro da programação fetal será caracterizado por mães obesas que desenvolverão DM gestacional e darão a luz a fetos macrossômicos que perpetuarão por gerações suas alterações metabólicas. Ao nascimento apresentarão deficiências nutricionais, dado o aporte insuficiente de micronutrientes inerentes a dietas de alta densidade energética, predominantemente hiperlipídicas no mundo ocidental (James, 2002).

Dietas de alta densidade energética (ADE)

O crescente aumento da prevalência de obesidade no mundo vem sendo atribuído principalmente a modificações do estilo de vida, com predominância de dietas hiperenergéticas ocidentais e sedentarismo na maior parte dos países. Nesse contexto, o impacto metabólico de dietas ricas em lipídios vem sendo estudado frequentemente e já é aceita internacionalmente a forte correlação entre consumo exagerado de AGS e incidência de DCV (NIH, 1998; NCEP, 2002). Desde então, foram impostas

inúmeras recomendações à população visando à redução da ingestão dessa classe lipídica. A partir daí, um aumento compensatório do consumo de AGT, derivado principalmente da inclusão de gordura vegetal hidrogenada na dieta, foi observado. Estatísticas americanas apontam que da média de 35% de ingestão lipídica da população, 8% representam AGT (Allison et al., 1999; Hu et al., 2001; IBGE, 2004).

Os efeitos do AGT são ainda mais nocivos que os do AGS, pois além de promover aumento da LDL (*“low density lipoprotein”*), reduzem a HDL (*“high density lipoprotein”*) e aumentam o risco de DAC. Além de favorecer a resistência à insulina e o acúmulo de gordura na região abdominal, acentuando o risco de SM em humanos (Kris-Etherton et al., 1997; Hu et al., 2001). Diversos modelos experimentais vêm sendo utilizados para tentar mimetizar o consumo exagerado de AGS e AGT atual e suas alterações metabólicas a partir do emprego de dietas hiperlipídicas ou ADE. Em roedores, os autores são unânimes ao relatarem o aumento da massa corporal dos animais submetidos a esses protocolos após cerca de 3 semanas de dieta ADE, refletindo um aumento da massa adiposa, e sua forte associação com a gênese da HAS após 8 semanas de experimento (Dobrian et al., 2000; Colandré et al., 2003; Grisk e Rettig, 2004) .

A hipertensão induzida por obesidade em modelos experimentais alimentados com ADE mimetiza as alterações morfológicas e metabólicas da HAS em humanos. A literatura documenta que a etiologia da HAS nesses modelos experimentais engloba resistência à insulina, hiperinsulinemia e estímulo do sistema nervoso simpático, sem descartar

o componente renal (Hall et al., 1998; Hall et al., 2003). A redução da expressão do subtipo α_2A -adrenoreceptor, que possui efeito hipotensor, no rim de animais com sobrepeso induzido por dietas ADE, colabora para o estabelecimento do quadro hipertensivo (Coatmellec-Taglioni et al., 2000; Coatmellec-Taglioni et al., 2002). Além disso, a administração crônica de tais dietas promove alterações hemodinâmicas importantes como elevação da frequência cardíaca e de mais de 50% do débito cardíaco explicadas principalmente pelo incremento do tecido adiposo e seu fluxo sanguíneo associado (Hall et al., 1998).

A HAS induzida por sobrepeso cursa com resistência seletiva à insulina, ou seja, a captação tecidual de glicose é prejudicada, porém algumas propriedades da insulina são mantidas. Mesmo na presença de hiperinsulinemia, indivíduos obesos continuam sensíveis à retenção renal de sódio mediada pela insulina, promovendo HAS. Outros autores associaram níveis suprafisiológicos de insulina ao remodelamento arterial adverso. Além disso, a hiperinsulinemia determina redução da atividade da óxido nítrico sintetase endotelial por bloqueio da via PI3quinase, colaborando para o estabelecimento da HAS por anormalidades na vasodilatação. Nesse modelo de sobrepeso induzido por ADE, a hiperinsulinemia está relacionada à resistência à leptina e ao acúmulo de triglicerídeos na musculatura periférica e precede a HAS, colaborando para a sua gênese (Osei, 1999; Ginsberg, 2000; Steinberg e Dyck, 2000; Hall et al., 2001; Rocchini, 2002)

A influência da hiperinsulinemia na ativação simpática também não deve ser descartada. O aumento do tônus simpático produz elevação da frequência cardíaca, do débito cardíaco e aumento da reabsorção de sódio. A denervação renal previne tanto a HAS quanto a retenção de sódio associada à obesidade. A ingestão alimentar estimula os receptores β -adrenérgicos e a atividade simpática, determinando aumento do gasto energético. Contudo, ingestão crônica de dietas ADE e a hiperfagia resultante destas promovem estímulo contínuo desses receptores e a conseqüente redução de sua expressão. A HAS apresenta relação direta com reduzida resposta cardíaca, vascular e glicêmica à β -agonistas, ressaltando os efeitos da estimulação simpática excessiva na gênese da HAS (Kassab et al., 1995; Mancina et al., 1999; Julius et al., 2000; Rocchini, 2002; Grisk e Rettig, 2004; Landsberg, 2006).

Outro efeito das dietas de alta densidade energética é a hiperleptinemia, a qual também aumenta o tônus simpático. Inicialmente reconhecida como um fator envolvido na saciedade, a leptina exerce efeitos renais, metabólicos e sobre o tônus simpático que contribuem para as disfunções cardiovasculares secundárias à obesidade. Níveis elevados de leptina promovem redução da expressão (“*down-regulation*”) do receptor Ob-R (receptor da leptina) na medula renal de ratos alimentados com dietas ADE por mecanismo de degradação mediado por clatrina que segue a rota lisossomal. Isso resulta em reduções na produção de óxido nítrico renal e na natriurese, corroborando para a elevação da PA (Ahima e Flier, 2000; Hall et al., 2001; Coatmellec-Taglioni et al., 2003).

O excesso de massa corporal também vem sendo relacionado com a ativação do SRAA apesar da retenção de sódio e da expansão do volume extracelular. Esta ativação ocorre principalmente por compressão da medula renal a partir do acúmulo anormal de gordura perirenal e modificações histológicas da medula renal que incluem aumento dos componentes da matriz extracelular (MEC) e células intersticiais entre os túbulos renais (Hall et al., 1998; Hall, 2003; Hall et al., 2003). Ainda auxiliam na compressão medular o aumento do estresse oxidativo mediado pelo excesso de tecido adiposo ou pela dieta. Esses resultam em aumento da liberação de renina, o qual vem sendo encontrado em roedores alimentados com dietas ADE e apresentam forte correlação com os elevados níveis pressóricos, indicando uma ação efetiva do SRAA na elevação da PA (Dobrian et al., 2000; Dobrian et al., 2001; Dobrian et al., 2003).

Adicionalmente, a expressão dos componentes do SRAA pelo tecido adiposo explica a forte correlação positiva entre níveis de leptina (indicador da massa de tecido adiposo), angiotensina II e atividade plasmática da renina em indivíduos obesos. A expressão de angiotensina II é regulada positivamente pelos ácidos graxos por mecanismo de transcrição ativado por PPAR- α e/ou PPAR- γ , estando aumentada na vigência de dietas hiperlipídicas (Engeli et al., 2000; Boustany et al., 2005). Foi demonstrado ainda um aumento da expressão de angiotensinogênio no tecido adiposo intra-abdominal em ratos

alimentados com dieta ADE. Esse aumento repercute no SRAA sistêmico, ativando-o, e promovendo HAS (Boustany et al., 2004).

A partir dessa gama de mecanismos propostos e resumidos na Figura 4, a HAS induzida por sobrepeso em roedores submetidos a dietas hiperlipídicas é acompanhada também por remodelamento vascular e renal adversos. Inicialmente, o aumento da taxa de filtração glomerular e a vasodilatação renal ajudam a superar a compressão medular e reabsorção tubular aumentada, mantendo o balanço de sódio à custa de elevação na PA (Hall et al., 1998; Dobrian et al., 2000; Hall, 2003; Hall et al., 2003).

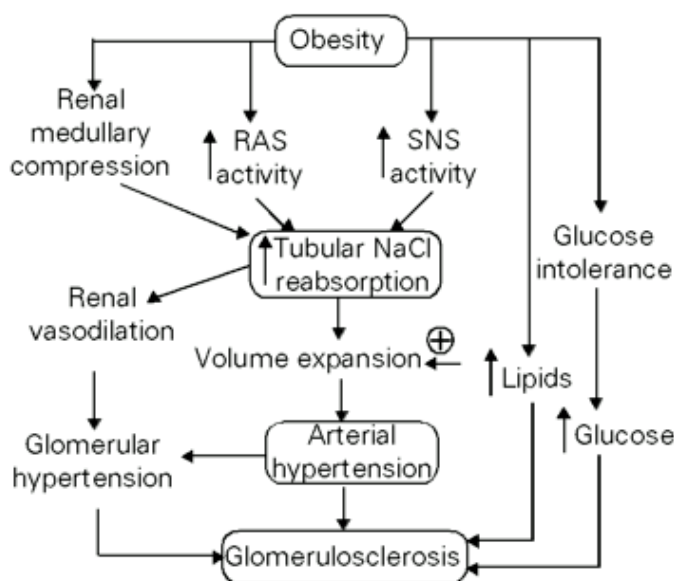


Figura 4 – Mecanismos que conduzem à HAS em roedores alimentados com dieta ADE (Hall et al., 1998).

Quando administradas a proles restritas, dietas hiperenergéticas amplificam a hiperfagia e ganho ponderal, exacerbam a HAS programada

intra-útero, e promovem alterações metabólicas como resistência à insulina, hiperinsulinemia e hiperleptinemia (Petry et al., 1997; Vickers et al., 2000; Vickers et al., 2001). Essas observações reforçam o conceito de que adaptações resultantes da programação fetal tornam-se mais malélicas quando há discrepância entre meio pré-natal e pós-natal (Gluckman e Hanson, 2004). Contudo, o período no qual o insulto fora aplicado condiciona a intensidade dos seus efeitos. Foi observado que a dieta administrada ao longo da lactação é decisiva na programação da hiperfagia e no conseqüente ganho ponderal exacerbado. O crescimento acelerado durante a lactação de animais que foram restritos (animal recuperado) cursa com hiperfagia, enquanto a restrição protéica nesse período torna o animal resistente ao ganho ponderal mesmo quando recebem dieta ADE no desmame. Prova disso é que aos 3 meses de idade, roedores que sofreram restrição na lactação são mais leves que os animais não programados. Porém os animais recuperados, restrito na gestação e alimentados normalmente na lactação, são os mais pesados de todos (Ozanne et al., 2004).

Recentemente, foi demonstrado que a leptina desempenha ampla variedade de ações durante a gestação e lactação, afetando o crescimento e o desenvolvimento tanto por mecanismos centrais quanto periféricos. No período neonatal, a leptina é crucial à maturação adequada das projeções dos núcleos arqueados hipotalâmicos (primeiras duas semanas pós-natal), à formação do eixo adipoinssular e à proliferação das células β -

pancreáticas, todos implicados na regulação precisa do apetite (Haynes et al., 1997; Holmes et al., 2003).

A atividade do eixo adipoinsular consiste no fato de que em condições fisiológicas, a insulina estimula a adipogênese e esta promove o aumento da leptina, que por meio de “*feedback*” negativo reduz a produção de insulina pelo pâncreas, mas aumenta a sensibilidade dos tecidos periféricos a esse hormônio, mantendo a homeostase metabólica (Haynes et al., 1997; Kieffer e Habener, 2000; Vickers et al., 2001). Em condições normais, à medida que os estoques de gordura aumentam, níveis circulantes elevados de leptina reduzem a insulina circulante e menos energia é direcionada à formação de estoques de gordura. Em contrapartida, quando os depósitos adiposos caem, níveis reduzidos de leptina permitem o aumento da produção de insulina e a resultante deposição de gordura. Dessa forma, o eixo adipoinsular integra o tecido adiposo, o cérebro e o pâncreas endócrino no controle do comportamento alimentar, regulação metabólica e balanço energético (Kieffer e Habener, 2000; Breier et al., 2001). A Figura 5 resume essas ações.

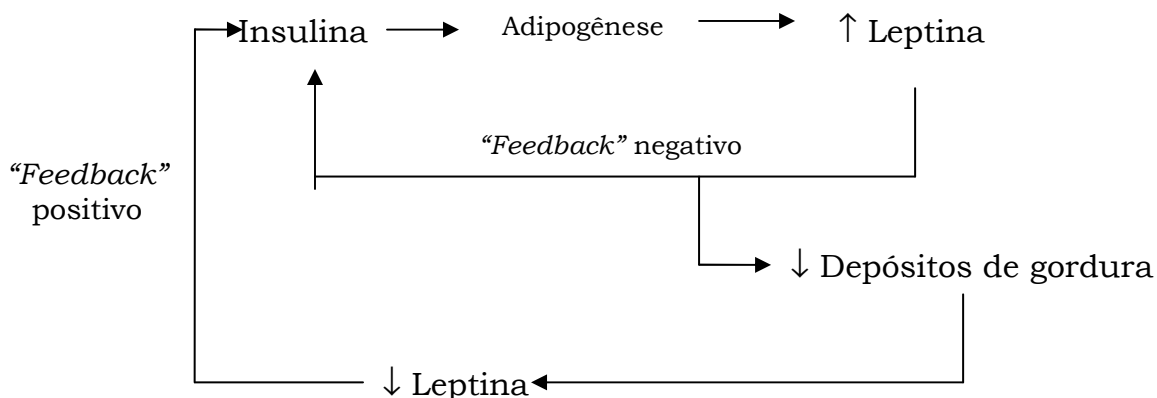


Figura 5 – Eixo adipoinsular

Alterações hepáticas secundárias à programação fetal ou dietas de alta densidade energética

O fígado desempenha papel central no controle da homeostase glicêmica e está sujeito a uma regulação complexa por substratos, insulina e outros hormônios. Em roedores, este órgão parece ser particularmente importante para a sensibilidade à insulina, já que desde que a ação hepática da insulina seja preservada, a espécie fica protegida contra a DM. De fato, roedores estocam quantidade proporcionalmente superior de glicogênio quando comparados a humanos e observa-se forte correlação entre resistência hepática à insulina e hiperglicemia de jejum, ressaltando a importância do fígado na gênese do DM2 nesses animais (Nandi et al., 2004; Diehl, 2005).

Quando submetidos à restrição protéica ou energética durante períodos críticos de desenvolvimento, o fígado emerge juntamente com o pâncreas como os órgãos que sofrem alterações fisiológicas e estruturais mais marcantes. A literatura documenta que a restrição protéica neonatal promove uma redução do número de lóbulos hepáticos, concomitante a um aumento do tamanho desses (Burns et al., 1997; Ozanne e Hales, 2002a).

No que se refere à organogênese, o meio intra-uterino adverso promove modificações seletivas na trajetória de crescimento de diferentes órgãos, com repercussões permanentes. O impacto do retardo do desenvolvimento

intra-uterino sobre o crescimento dos órgãos pode ser dividido em três categorias: 1) órgãos que apresentam redução superior a da massa corporal (pâncreas, baço, fígado e músculo); 2) redução proporcional a da massa corporal (coração, rins e timo); 3) redução menor que a da massa corporal (cérebro e pulmão). Esses efeitos são sempre mais notáveis em machos, já que estes apresentam trajetória de crescimento mais rápida que as fêmeas (Desai et al., 1996; Desai et al., 2005).

O metabolismo hepático é profundamente afetado pela restrição protéica intra-uterina. Animais restritos cursam com liberação hepática reduzida de glicose em resposta ao estímulo por glucagon aos 3 meses de idade, caracterizando resistência ao glucagon. Por outro lado, quando a insulina foi administrada em conjunto com o glucagon um aumento inesperado da produção hepática de glicose foi observado, caracterizando perda da capacidade da insulina em suprimir a produção de glicose. Enquanto um número reduzido de receptores hepáticos para o glucagon justifica a resistência a esse hormônio em animais restritos, os receptores para insulina encontram-se aumentados e um defeito pós-receptor parece ter sido programado (Ozanne et al., 1996; Ozanne e Hales, 1999; Hales e Ozanne, 2003; Fernandez-Twinn e Ozanne, 2006).

O baixo peso ao nascer encontra-se associado com deterioração mais rápida da tolerância à glicose secundária ao aumento da expressão da enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK) na região periportal e à redução da atividade da glicoquinase (GK) na região em torno da veia hepática. Essas alterações conduzem ao aumento da gliconeogênese e à

redução da captação de glicose pelo fígado, ou seja, aumento da síntese e redução da quebra da glicose. Dessa forma, o excesso de glicose produzido na região periportal não é removido pelas células próximas à veia hepática e a produção exagerada de glicose pelo fígado de animais restritos é observada (Hales et al., 1996; Burns et al., 1997; Ozanne, 1999; Burns et al., 2000; Hales e Ozanne, 2003; Murphy et al., 2003). A perfusão do fígado de animais restritos com lactato produz aumento da produção de glicose principalmente por redução da captação de glicose perivenosa, sendo o aumento da gliconeogênese um fator coadjuvante desse processo (Burns et al., 1997; Murphy et al., 2003).

As adaptações hepáticas resultantes da programação fetal podem ser agravadas pela adoção de uma dieta hiperlipídica ao longo da vida pós-natal. Dietas hiperlipídicas aumentam a deposição de gordura. O excesso de tecido adiposo resulta em incremento das taxas de lipólise e maior captação de ácidos graxos livres (AGL) por órgãos como o fígado, pâncreas e músculo esquelético. Normalmente, esse excesso de AGL é canalizado para a mitocôndria onde ocorre a β -oxidação. Contudo, nos estados de resistência à insulina, a carga excessiva de AGL é direcionada à lipogênese (esterificação), conduzindo ao acúmulo de triglicerídeos no interior desses órgãos que não são destinados a essa função, configurando a condição patológica conhecida como esteatose hepática (Holness e Sugden, 1999; Vega, 2001; Festi et al., 2004).

A esteatose hepática ou doença não alcoólica do fígado gorduroso (NAFLD) vem sendo apontada como a manifestação hepática da SM e já

acomete 25% da população dos países onde a obesidade é mais prevalente (Marchesini et al., 2001). Embora inicialmente tenha característica benigna, ela representa o ponto de partida de doenças mais graves como esteatohepatite não-alcoólica (NASH), cirrose hepática e hepatocarcinoma. O padrão ouro para seu diagnóstico é o acometimento de mais de 5-10% do peso do tecido ou como percentual de hepatócitos afetados em biópsia hepática. Seus principais fatores de risco incluem obesidade central e resistência à insulina, além do DM2, dislipidemia e utilização de determinados fármacos. A esteatose hepática ocorre sempre que o “*input*” de ácidos graxos (captação, síntese ou esterificação) excede o “*output*” (oxidação e secreção de VLDL), resultando no acúmulo principalmente de triglicerídeos nos hepatócitos (Brunt et al., 1999; Koteish e Diehl, 2001; Neuschwander-Tetri e Caldwell, 2003; Festi et al., 2004).

Dentre as causas mais freqüentes do aumento do “*input*” figuram: o consumo de dietas hiperlipídicas, o aumento da lipogênese “*de novo*” e da esterificação de ácidos graxos (AG). Por outro lado, a redução do output ocorre por meio da menor secreção de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e/ou da β -oxidação. As repercussões da esteatose são sistêmicas, visto que a oxidação de AG nas mitocôndrias de hepatócitos provém uma gama de substratos energéticos essenciais ao metabolismo e esta via metabólica se encontra reduzida na esteatose (Koteish e Diehl, 2001; den Boer et al., 2004).

Os fatores que provocam a progressão da NAFLD, esteatose isolada, para a NASH, caracterizada pela presença de fibrose e necrose, continuam

obscuros (Kirsch et al., 2003). Baseado na teoria dos dois passos, o primeiro passo consiste no desenvolvimento da esteatose hepática, a qual uma vez estabelecida promove adaptações de rotas sinalizadoras celulares frente aos níveis elevados de estresse oxidativo. Dessa forma a célula sobrevive nesse meio adverso, mas fica mais propensa ao desenvolvimento do segundo passo que a partir de apoptose e/ou necrose aliada à inflamação conduz à NASH (Festi et al., 2004).

O desenvolvimento da esteatose (primeiro passo) encontra-se intimamente relacionado à obesidade centrípeta à medida que 76% dos portadores são obesos (Marceau et al., 1999; Akbar e Kawther, 2006). A literatura postula que o tecido adiposo abdominal é a maior fonte de AGL. Animais com sobrepeso induzido por dieta ADE cursam com resistência à insulina, a qual possui efeitos distintos sobre o tecido adiposo e hepático. No primeiro ela estimula a lipólise, com conseqüente aumento do transporte de AGL para o fígado pela veia porta e aumento do “*input*” de AG. Por outro lado, no fígado, a hiperinsulinemia inibe a β -oxidação, reduzindo o “*output*”. Ambas as ações favorecem o acúmulo de gordura nos hepatócitos, condição que promove resistência hepática à ação da insulina. A perda da capacidade da insulina em suprimir a produção hepática de glicose agrava a resistência global à insulina e exacerba a manifestação dos componentes da SM como obesidade, dislipidemia e HAS (Festi et al., 2004; Adams e Angulo, 2005; Brunt, 2005). Outro mecanismo proposto é o aumento da liberação de fator de necrose tumoral – alfa (TNF- α) pelo excesso de tecido adiposo visceral. Esta adipocina

promove redução da expressão do PPAR- α , receptor nuclear que ativa a transcrição de genes implicados na formação de enzimas ligadas a oxidação lipídica. A redução da atividade do PPAR- α além de reduzir a oxidação lipídica, ativa a apoptose e aumenta o estresse oxidativo, ambos apontados como cruciais para a progressão para a NASH (Bishop-Bailey, 2000; Koteish e Diehl, 2001; Svegliati-Baroni et al., 2006).

A alta ingestão de AGS pode atuar como o segundo passo, acelerando a progressão da NAFLD para NASH à medida que promove aumento da injúria hepática, ativação de células estreladas, ativação da caspase 3 (efetora) e fibrose periportal (Carmiel-Haggai et al., 2005; Wang et al., 2006). A NASH cursa com alteração da composição da MEC caracterizada pelo aumento da síntese em detrimento à degradação desta. As células estreladas são as mais importantes no tecido hepático para a síntese de MEC e são ativadas por dietas ADE, espécies reativas de oxigênio, triglicerídeos, VLDL e citocinas inflamatórias. Com o desenvolvimento da cirrose, por exemplo, há aumento do número de células estreladas no fígado, as quais na presença de injúria hepática apresentam ativação de mecanismos pré e pós-transcricionais que promovem a deposição de colágeno tipo I e fibrose (Lu et al., 1998; Lieber et al., 2004; Carmiel-Haggai et al., 2005).

A literatura documenta outras evidências de que a qualidade do lipídio da dieta é primordial à patogênese da esteatose hepática. Dietas ricas em AGT promovem o acúmulo de triglicerídeos principalmente no fígado de roedores após 8 semanas de administração, ao passo que dieta similar

com o predomínio de AGS eleva preferencialmente os triglicerídeos plasmáticos no mesmo modelo. Uma explicação plausível é a oxidação mais lenta dos isômeros trans em comparação aos isômeros cis de ácidos graxos, o que juntamente com anormalidades do metabolismo lipídico impostas por dietas ADE aumentam a relação AG esterificados/AG oxidados (Aguila et al., 2003; Colandré et al., 2003). Além do aumento da ingestão energética, o elevado estresse oxidativo hepático encontra-se relacionado ao ganho ponderal, resistência à insulina e ao agravamento da SM em roedores alimentados com dietas ADE, predispondo à esteatose hepática (Milagro et al., 2006). Alterações funcionais e estruturais de mitocôndrias hepáticas, local onde ocorre a β -oxidação, aumento da peroxidação lipídica em peroxissomos e microsossomos e o conseqüente aumento do estresse oxidativo já foram relatadas em animais portadores de esteatose microvesicular (Natarajan et al., 2006).

Material & Métodos

Animais e dieta

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os guias convencionais para experimentação em animais (publicação N°85-23 do NIH, revisada em 1996). Os cuidados com os animais seguiram as normas impostas pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), sendo aprovados pelo comitê de ética do Hospital Universitário Pedro Ernesto sob o protocolo CEA/91/2005.

Ratos *Wistar* obtidos a partir de colônias mantidas no Laboratório de Morfometria & Morfologia Cardiovascular foram mantidos em condições controladas de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade ($60 \pm 10\%$), com acesso irrestrito a comida e água. O ambiente foi submetido a ciclos de 12:12h claro-escuro e de reposição de ar (15 minutos/hora).

Fêmeas nulíparas foram acondicionadas em caixas de polipropileno juntamente com machos durante a noite e o acasalamento foi confirmado na manhã seguinte pela presença do plug vaginal ou de esfregaço vaginal positivo. A partir de então, as fêmeas foram colocadas em caixas individuais e alimentadas durante a gestação e primeira metade da lactação com uma dos seguintes esquemas nutricionais: dieta normoprotéica (19g proteína/100g/dieta) ou dieta restrita em proteínas (5g proteína/100g/dieta). Ambas as dietas eram isoenergéticas (19.000kJ/Kg/dieta, sendo a dieta restrita em proteínas compensada pela adição de carboidratos). Destaca-se que a restrição de proteínas foi

meramente quantitativa e não qualitativa, já que a fonte de proteínas era de alto valor biológico nas duas dietas. O aporte de vitaminas e minerais também foi idêntico para as duas dietas e contemplava as recomendações do “*American Institute of Nutrition*” para roedores na fase de gestação e lactação (AIN 93 G)(Reeves et al., 1993).

A manipulação das dietas ofertadas às gestantes e lactantes foi feita pela empresa Rhoster (São Paulo, www.rhoster.com.br) e suas composições químicas estão descritas detalhadamente na Tabela 1.

Tabela 1 – Características químicas das dietas empregadas na gestação e lactação.

Nutriente	Dieta normoprotéica	Dieta hipoprotéica
Carboidrato	77g	91g
Proteína	19g	5g
Lipídio	4g	4g
Fibras	10%	10%
Umidade	13%	13%
Kcal	420	420
kJ	1756	1756

*Mistura de Vitaminas: 50,0mg, **Mistura de Minerais: 30,0mg. Vitaminas* (por Kg de dieta): tiamina 6,5mg; riboflavina 5,3mg; piridoxina 6,3mg; niacina 7,5mg; ácido fólico 1,3mg; biotina 0,5mg; cianocobalamina 0,19mg; palmitato de retinol 1562UI; colecalciferol 1250UI; acetato de tocoferol 81,3mg; ácido ascórbico 185mg. Minerais** (mg por Kg de dieta): cálcio 6000; fósforo 5000; sódio 500; potássio 1800; cloro 500; magnésio 400; manganês 50; ferro 35; zinco 29; cobre 5. Fibras 11,5g. Mistura de Vitaminas* e Minerais** segundo recomendação da AING-93 (Reeves et al., 1993).

A ingestão alimentar e o ganho ponderal maternos foram monitorados diariamente, sendo que o animal mais pesado e o mais leve de cada grupo foram excluídos do experimento. Ao nascimento, o sexo da prole foi identificado por meio da distância naso-genital e a massa corporal foi aferida separadamente para os dois gêneros. O tamanho da ninhada foi ajustado aleatoriamente de maneira que cada lactante amamentava 3 fêmeas e 3 machos, garantindo nutrição adequada e padronizada até o desmame. Para simplificar, a prole derivada do grupo de mães com dieta normoprotéica foi denominada NP (*“normal protein”*) e aqueles originados das progenitoras restritas em proteínas foi chamado de LP (*“low protein”*).

As referidas dietas foram ofertadas durante todo o período gestacional e nos 10 primeiros dias de lactação. Depois deste tempo, as lactantes foram alimentadas com a ração padrão do laboratório. Ao desmame (21 dias de idade), machos e fêmeas das proles NP e LP foram divididos aleatoriamente em dois grupos pós-natais comparáveis quanto à massa corporal e o comprimento, para receberem dieta padrão (Standard Chow, SC, 6g gordura/100g dieta) ou dieta com alta densidade energética (High Fat, HF, 30g gordura/100g dieta) (Aoyama et al., 2000). A composição das dietas experimentais encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Características químicas das dietas ADE e padrão.

<i>Componente da dieta</i>	<i>Dieta ADE</i>	<i>Dieta Padrão</i>
Ração padrão ¹	60g	100g
Leite condensado ²	15g	-
Gordura hidrogenada ³	25g	-
Proteína (%)	15	23
Lipídio (%)	30	6
Carboidratos (%)	55	71
Energia (kcal/100g)	550 (+31%)	420
Energia (kJ/100g)	2300 (+31%)	1756

Ração própria para ratos da Nuvilab, ²Leite Condensado, Nestlé, São Paulo; ³Gordura Hidrogenada, Primor.

Posteriormente à formação dos grupos de estudo, cada animal foi numerado e identificado pela sigla do seu grupo e foi acompanhado quanto às condições gerais de saúde até os 6 meses de idade. A distribuição dos oito grupos de estudos e o número de animais/grupo está na Tabela 3.

Massa corporal e ingestão alimentar

A massa corporal (MC) foi aferida semanalmente sempre às 08h00min em balança digital (precisão 0,01 g), assim como o comprimento naso-anal (CNA). O controle da ingestão alimentar era realizado diariamente no mesmo horário e balança a partir da quantificação e descarte do resto

alimentar. Dado o alto conteúdo de gordura da dieta ADE, ocorre uma maior susceptibilidade à rancificação e, portanto, a reposição diária é recomendada.

Tabela 3 – Distribuição dos grupos de estudo conforme o esquema alimentar das mães e dos filhotes (Legenda: NP = normal-protein diet; LP = low-protein diet; SC = standard chow diet; HF = high fat diet).

Gênero	Dieta materna	Dieta dos filhotes após o demame	n
Fêmeas	NP	SC	8
		HF	6
	LP	SC	8
		HF	9
Machos	NP	SC	8
		HF	7
	LP	SC	8
		HF	7

Pressão Arterial

A PAS foi aferida semanalmente às 09h00min com os animais conscientes por meio do método não invasivo da pletismografia da cauda (Letica LE 5100, Panlab, Barcelona, Espanha) dos 3 aos 6 meses de idade.

Eutanásia e obtenção do material para análise bioquímica

No dia anterior à eutanásia, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas e submetidos ao jejum noturno (12 h). Antes do procedimento, os animais foram anestesiados profundamente com

pentobarbital sódico intraperitoneal (50 mg/kg). Em seguida, o tórax foi aberto por incisão mediana ventral e as amostras de sangue foram obtidas rapidamente por punção cardíaca (átrio direito). O sistema vascular foi perfundido com pressão constante (90 mmHg) por meio de um cateter posicionado no ventrículo esquerdo (Miniplus 3, Gilson, Villiers Le Bel, França), primeiramente com grande quantidade de solução fisiológica a 0,9%, seguida do fixador (Formalina de Millong, 1,27 mol/L formaldeído em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2) até o animal ficar totalmente rígido.

Os depósitos de gordura (massa de gordura retroperitoneal e genital) foram completamente removidos de ambos os lados e foram pesados em balança de precisão digital. A gordura retroperitoneal foi considerada como os depósitos localizados ao redor dos rins e ao longo dos músculos lombares. A gordura genital (ovárica nas fêmeas e epididimária nos machos) incluiu o tecido adiposo ao redor dos ureteres e bexiga, assim como dos epidídimos, ovários, ovidutos e útero. A tíbia esquerda foi dissecada e o comprimento da tíbia foi aferido com auxílio do paquímetro devido ao fato de que massas corporais discrepantes entre os grupos podiam transformar os parâmetros absolutos em dados inconcludentes. Dessa forma, a tíbia foi empregada para padronizar as massas de gordura/órgãos a fim de permitir o estudo comparativo entre todos os grupos (Yin et al., 1982).

Imediatamente após a coleta do sangue, o plasma foi separado por centrifugação em temperatura ambiente (3.000 rpm durante 10 minutos) e estocado a -80°C até a realização de análise bioquímica. Todos os

lipídios plasmáticos foram extraídos pelo método colorimétrico enzimático. O colesterol total (CT) foi determinado pelo método colesterol esterase/colesterol oxidase/peroxidase e os triglicerídeos pelo método glicerol fosfato oxidase/peroxidase. As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) foram precipitadas abundantemente pela adição de ácido fosfotungstênio na presença de íons magnésio. Após a devida centrifugação, foi determinada a concentração da lipoproteína de alta densidade (HDL), a qual permaneceu em suspensão. Na seqüência, a fórmula de Friedwald foi utilizada para estimar a concentração de LDL (Friedewald et al., 1972). No que concerne às provas de função hepática, foram determinadas as concentrações de transaminase oxalaxética (TGO), transaminase pirúvica (TGP) pelo método colorimétrico (Frankel-Reitman). Por outro lado, a concentração de fosfatase alcalina (FA) e de gama glutamyl transpeptidase (GGT) foram determinadas pelo método cinético colorimétrico.

Estereologia do fígado

O fígado foi cuidadosamente dissecado e teve seu volume aferido pelo método de Scherle (Scherle, 1970). Este se fundamenta no deslocamento do líquido devido ao volume do órgão submerso na solução salina de maneira que as paredes do recipiente posicionado sobre a balança não sejam tocadas. A partir de tal procedimento, o volume do órgão é obtido por meio do peso, dado que $\text{volume} = \text{massa}/\text{gravidade}$ e que a gravidade

da solução fisiológica salina é 1,0048, pode-se considerar então que volume (cm³) = massa (g) (Weibel, 1979).

Na seqüência, o fígado foi cortado em fragmentos pequenos, os quais foram mantidos no mesmo fixador citado anteriormente durante 48h em temperatura ambiente. Fragmentos aleatórios foram desidratados em álcoois de concentração crescente até alcançar o álcool absoluto, diafanizados em xilol e incluídos em Paraplast plus (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). O material emblocado foi seccionado com 3 e 10 µm, e então corados com Hematoxilina-Eosina. Vários cortes foram obtidos de cada fragmento do órgão e 5 campos aleatórios foram analisados ao microscópio, configurando um estudo completamente cego.

Para as análises estereológicas, foram utilizados um sistema de vídeo-microscopia com microscópio Leica DMRBE e objetivas planocromáticas (Leica, Wetzlar, Alemanha) e um sistema teste com 36 pontos (PT) acoplado ao monitor. As quantificações consideraram somente estruturas preservadas e que não tocavam a linha proibida (Gundersen, 1977). Essas foram:

- Densidade de volume de hepatócitos, binucleação e esteatose (%)

$V_V := \frac{P_P}{P_T}$ (P_P é o ponto que toca a estrutura desejada, P_T é o total de pontos teste).

A determinação do número total de núcleos de hepatócitos foi realizada mediante o método do disector óptico, o qual consiste em dois planos

paralelos separados por uma distância conhecida (3 μ m - espessura do disector), determinada automaticamente pelo microscópio motorizado Leica. São contadas somente as estruturas que aparecem exclusivamente no plano de referência (“*look-up*”) e encontram-se parcial ou totalmente dentro da área-teste (Sterio, 1984).

- Densidade numérica (núcleo de hepatócitos)

$$Nv[hn] = \frac{Q^-}{e \cdot A_T} \quad (1/\text{mm}^2)$$

Onde o Q^- é o número de núcleos de hepatócitos focados exclusivamente no plano de referência (look-up), e é a espessura do disector e A_T é a área teste (2.240 μm^2).

Para cada animal estudado, 5 pares aleatórios do disector foram avaliados (detalhe na Figura 6). A correção do $Nv[hn]$ pelo percentual de binucleação permitiu a determinação precisa da densidade numérica de hepatócitos ($Nv[h]$), a qual multiplicada pelo volume hepático aferido pelo método de Scherle resulta no número total de hepatócitos ($N[h]$) por fígado (Gundersen et al., 1988; Franzen et al., 2005).

- $N[h] = Nv[h] \cdot V_{Fíg}$
- $AT[h]$ (área transversa de hepatócitos)

$$AT[h] = \frac{Vv[h]}{Q_A}$$

Onde $V_v[h]$ é o volume de densidade de hepatócitos, detalhado anteriormente e o Q_A é o número de perfis de hepatócitos observados no interior da área teste, excluindo os que incidem sobre a linha proibida (Mandarim-de-Lacerda, 2003).

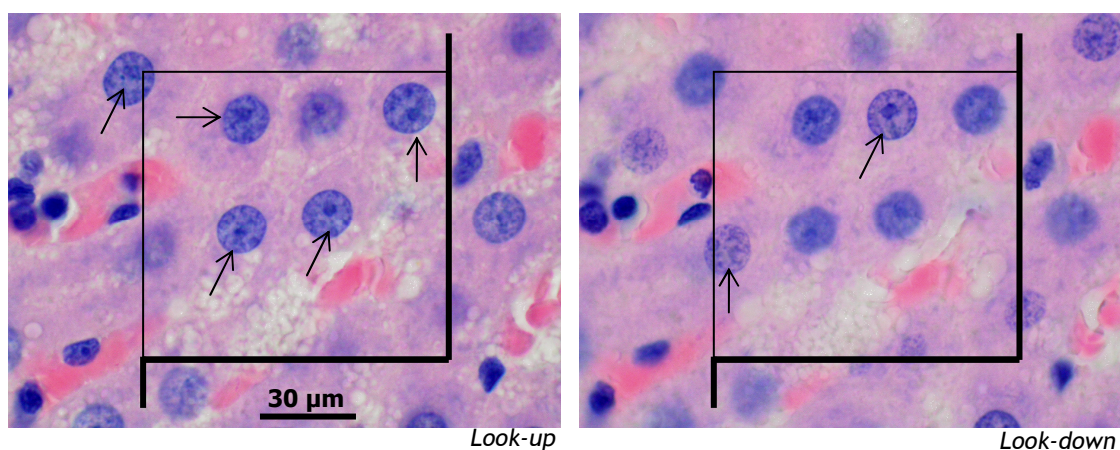


Figura 6 – Fotomicrografias do fígado exemplificando a construção de um par de “disector” (coloração H-E). No plano superior (*look up*) vêem-se núcleos de hepatócitos nitidamente na área-teste (setas). No plano inferior (*look down*) alguns núcleos passam a não ficar nítidos (“sombrias”) enquanto outros ficam nítidos (setas). Maiores detalhes em referências específicas sobre estereologia (Mandarim-de-Lacerda, 2003).

Análise estatística

As diferenças entre os parâmetros biométricos foram testadas pelo teste de análise de variância (ANOVA) seguido pelo pós-teste de Bonferroni, pois os grupos de estudo apresentavam número diferente de animais. Em contrapartida, os dados estereológicos foram testados por meio de análise de variância não-paramétrica Kruskal-Wallis e pelo pós-teste de Dunn, o qual apontou entre quais grupos existiam as diferenças encontradas. Em

todos os casos, o nível de significância de $p < 0,05$ foi considerado como estatisticamente significativo. Cabe ressaltar que os parâmetros concernentes às progenitoras foram analisados segundo o teste t não paramétrico, já que a existência de apenas dois grupos impossibilitou o emprego da análise de variância.

Resultados

Progenitoras

Durante o período gestacional e ao longo da lactação não houve diferença quanto à ingestão energética (Figura 7) e ao ganho ponderal (Figura 8) entre as ratas com dieta normoprotéica e aquelas com dieta hipoprotéica. Entretanto, a ingestão protéica foi acentuadamente menor entre as últimas ($P=0,0001$), destacando que o primeiro objetivo do trabalho fora alcançado com êxito (Figura 9).

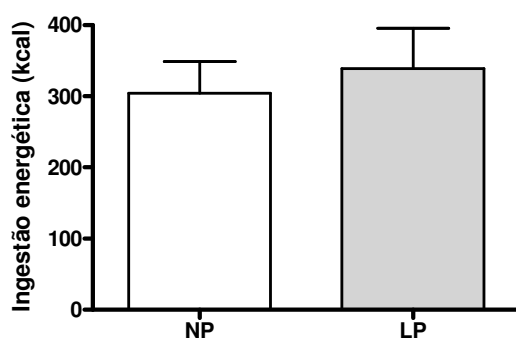


Figura 7 – Ingestão energética das progenitoras dos grupos NP e LP.

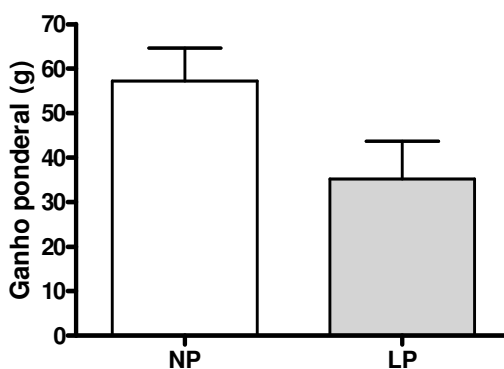


Figura 8 – Ganho ponderal das progenitoras dos grupos NP e LP.

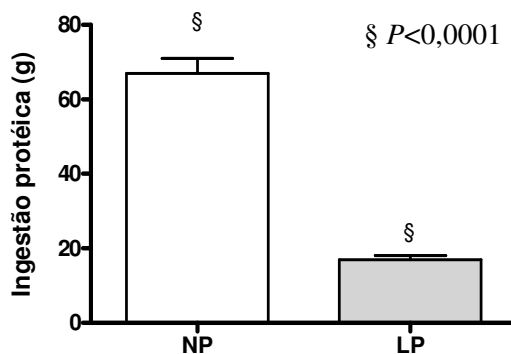


Figura 9 – Ingestão protéica das progenitoras dos grupos NP e LP.

Filhotes

Todos os animais toleraram bem a dieta ADE sem desenvolver diarreia ou qualquer outro tipo de limitação física. Não houve diferença significativa no que se refere à ingestão quantitativa de ração entre os grupos. Contudo, no que diz respeito à ingestão energética, os animais dos grupos NP-HF e LP-HF apresentaram valores significativamente maiores do que os seus respectivos controles ao longo de todo o experimento, dada a maior densidade energética da dieta ADE (+31%, $P < 0,01$).

A ingestão energética por unidade de massa corporal proporciona uma avaliação mais acurada à medida que exclui o viés do fato que animais maiores consomem maior quantidade de ração. Ambos os gêneros se comportaram de forma semelhante, ou seja, animais dos grupos LP apresentaram hiperfagia em relação aos seus respectivos controles no

início da vida ($P=0,01$). Porém, a hiperfagia foi cessada nos animais do grupo LP-SC em torno dos 3 meses de idade e somente aos 6 meses de idade nos animais do grupo LP-HF.

Biometria

Ao nascimento, os filhotes do grupo LP apresentaram baixo peso (-23%, $P=0,01$) e comprimento reduzido (-5%, $P=0,01$) quando comparados aos filhotes do grupo NP. Essas diferenças foram mantidas até o desmame, quando se tornaram ainda mais aparentes (-27% e -12%, respectivamente). Entretanto, aos 30 dias de vida, o baixo peso foi recuperado nos filhotes do grupo LP de ambos os gêneros. Quanto ao CNA, as fêmeas do grupo LP alcançaram as do grupo NP no 35^o dia pós-natal, enquanto que os filhotes machos apresentaram esse mesmo resultado somente no 49^o dia, indicando que as fêmeas provenientes do grupo LP apresentaram um ritmo de crescimento mais acelerado.

Com relação aos efeitos da dieta ADE, que foi administrada logo após o desmame dos filhotes dos grupos LP e NP, esta provocou sobrepeso tanto nos filhotes machos (+10%, $P=0,05$) quanto nos filhotes fêmeas (+25%, $P=0,01$) dos grupos NP-HF, já a partir do 77^o dia pós-natal (ou seja, após 8 semanas de dieta ADE). Por outro lado, os filhotes dos grupos LP-HF apresentaram dimorfismo sexual em relação à massa corporal. As fêmeas do grupo LP-HF apresentaram sobrepeso significativo quando comparadas às fêmeas do grupo LP-SC (+21%, $P=0,01$). Os machos do grupo LP-HF

recuperaram a massa corporal e alcançaram os animais dos grupos LP-SC e NP-SC, mas não ultrapassaram significativamente os mesmos até o final do experimento. Os dados relativos à massa corporal do 1º ao 6º mês estão pormenorizados nas Figuras 10 (fêmeas) e 11 (machos).

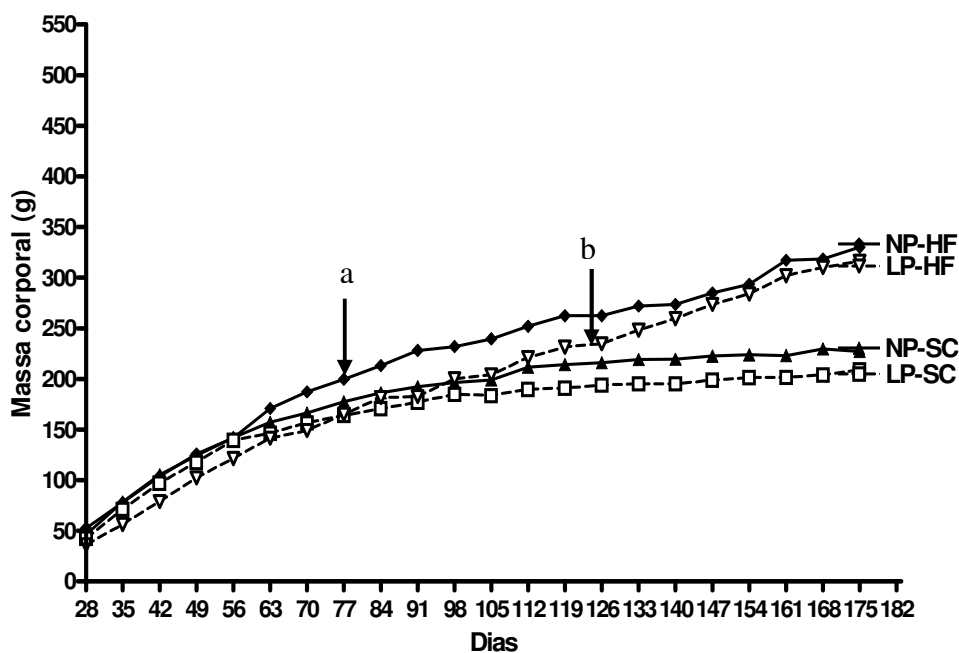


Figura 10 – Evolução da massa corporal dos filhotes do 1º ao 6º mês (fêmeas). Legenda: NP = normal-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; LP = low-protein diet perinatal; SC = standard chow diet pós-natal. As setas representam o momento no qual começou a haver diferença entre os grupos NP-HF e NP-SC (a); LP-HF e LP-SC (b), as quais se mantiveram até o 6º mês ($P < 0,05$).

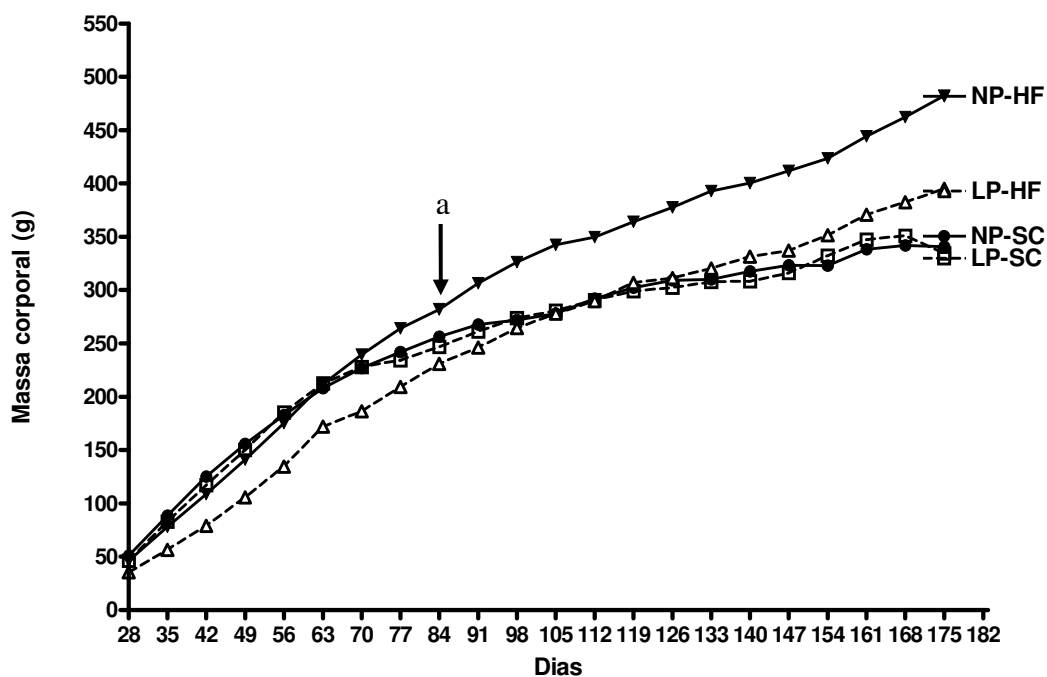


Figura 11 – Evolução da massa corporal dos filhotes do 1° ao 6° mês (machos). Legenda: NP = normal-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; LP = low-protein diet perinatal; SC = standard chow diet pós-natal. A seta representa o momento no qual começou a haver diferença entre os grupos NP-HF e NP-SC (a), a qual foi mantida até o 6° mês ($P < 0,05$).

No que tange à PA, a restrição protéica intensa (de 5%) no período perinatal desencadeou HAS leve nos machos (+20%, $P=0,01$) e nas fêmeas (+20%, $P=0,001$) dos grupos LP-SC já aos 3 meses de idade, sendo essa diferença mantida até o final do experimento. Ademais, a dieta ADE pós-natal provocou no grupo NP-HF efeito similar aos efeitos observados no grupo LP-SC sobre a evolução da HAS, em ambos os gêneros (+20%, $P < 0,01$). Os efeitos isolados da restrição protéica perinatal ou da dieta ADE pós-natal foram amplificados quando os dois estímulos adversos

(dieta hipoprotéica perinatal + dieta ADE pós-natal) foram aplicados simultaneamente. Dessa forma, os animais dos grupos LP-HF apresentaram maiores valores da PA durante todo o experimento, chegando a níveis pressóricos de 170mmHg (+11% em comparação com o grupo LP-SC, $P=0,001$) nas fêmeas e entre os machos do mesmo grupo os níveis pressóricos chegaram a 175mmHg (+15% em relação ao grupo LP-SC, $P=0,001$). Uma visão global da evolução da PA é fornecida pela Figura 12.

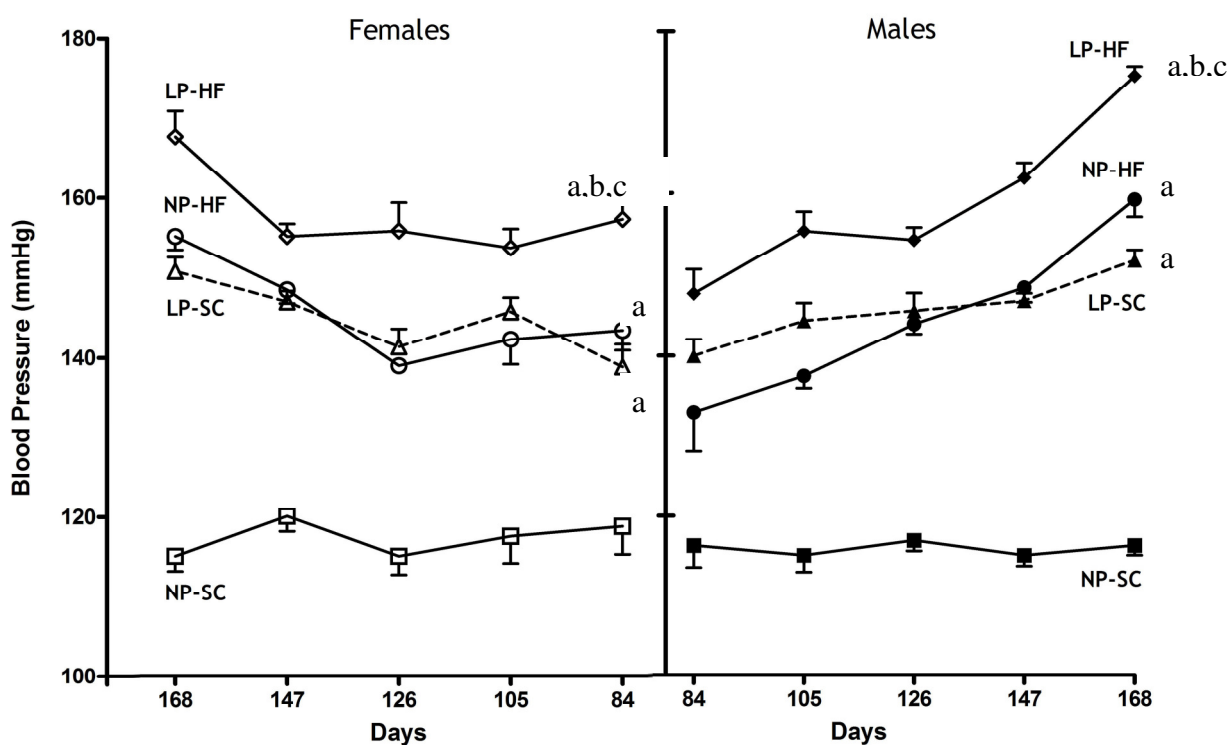


Figura 12 – Evolução da pressão arterial sistólica dos filhotes. Legenda: NP = normal-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; LP = low-protein diet perinatal; SC = standard chow diet pós-natal. Diferenças estatísticas: a \neq NP-SC; b \neq NP-HF; c \neq LP-SC, $P<0,01$.

Considerando-se a quantidade de gordura como percentagem da MC, os animais alimentados com ADE mostraram maiores acúmulos na região retroperitoneal que o seu respectivo controle. Os machos NP-HF

apresentaram um incremento de 8 vezes na quantidade de gordura depositada nesse sítio, enquanto as fêmeas NP-HF apresentaram o quádruplo do valor encontrado no NP-SC ($P < 0.0001$ para ambos os gêneros). Embora fêmeas NP-HF e LP-HF não tenham demonstrado diferenças significativas entre seus valores, os machos NP-HF exibiram valores superiores de gordura retroperitoneal quando comparados aos do grupo LP-HF (+50%, $P < 0.0001$). Quanto à gordura genital, ambos os gêneros apresentaram padrão semelhante de deposição, à exceção de fêmeas alimentadas com ADE que tenderam a acumular mais gordura nessa região que os machos do mesmo grupo (+16% em NP-HF, $P < 0.0001$ e +42% em LP-HF, $P < 0.0001$, tabela 4).

No que concerne às análises bioquímicas, os valores de glicemia de jejum de machos submetidos à ADE foram mais expressivos que dos seus respectivos controles. Todavia, esses não foram compatíveis com o diagnóstico de DM (tabela 4). Em contraste, as fêmeas não apresentaram diferença alguma entre os grupos. Similarmente, a determinação do perfil lipídico não mostrou diferenças relevantes entre os grupos (tabela 5). Com relação às provas de função hepática, fêmeas do grupo NP-HF apresentaram um aumento dos níveis de FA quando comparadas ao grupo NP-SC ($P < 0.05$). Esses resultados estão detalhados na tabela 6.

Tabela 4 – Resultados biométricos, bioquímicos e estereológicos dos filhotes. Legenda: NP = normal-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; LP = low-protein diet perinatal; SC = standard chow diet pós-natal.

Grupos	MF/CT (g/cm)	GG/MC (%)	GRP/MC (%)	N[hep] (billion)	Glicemia (mmol/L)
Fêmeas					
NP-SC	1,7±0,2	2,7±0,7	1,3±0,5	5,6±10,6 ^[§]	4,7±0,4
NP-HF	2,4±0,4 ^[a]	7,0±0,9 ^{[a][§]}	3,8±1,2 ^{[a][§]}	41,1±11,7	5,6±0,7 ^[§]
LP-SC	1,7±0,3	2,0±0,8	0,7±0,2	33,2±7,5 ^{[a][§]}	4,8±0,9
LP-HF	1,9±0,7 ^[§]	6,5±1,9 ^{[a][c][§]}	3,8±0,5 ^{[a][c]}	28,2±8,0	4,5±0,2 ^[§]
Machos					
NP-SC	2,1±0,2	1,8±0,3	1,1±0,5	72,8±12,2	4,0±0,2
NP-HF	2,6±0,2	4,1±0,5 ^[a]	6,5±1,3 ^[a]	42,2±6,8 ^[a]	7,7±0,4 ^[a]
LP-SC	2,3±0,5	1,0±0,2	0,9±0,2	56,0±11,2 ^[a]	4,9±0,7
LP-HF	3,2±0,5 ^{[a][c]}	3,0±0,4 ^[c]	4,1±1,0 ^{[b][c]}	36,8±2,8 ^[c]	8,5±0,3 ^{[a][c]}

[a] ≠ NP-SC; [b] ≠ Np-HF; [c] ≠ LP-SC; [§] ≠ grupo equivalente machos. MF= Massa do fígado, GG= gordura genital, GRP= gordura retroperitoneal, CT= comprimento da tíbia.

Tabela 5 – Perfil lipídico dos filhotes. Legenda: NP = normal-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; LP = low-protein diet perinatal; SC = standard chow diet pós-natal.

	CT	HDL-c	LDL-c	TG
	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L
Grupos				
Fêmeas				
NP-SC	1,49±0,31	0,57±0,10	0,72±0,25	0,43±0,15
NP-HF	1,04±0,19 ^[a]	0,39±0,05	0,54±0,21	0,41±0,23
LP-SC	1,19±0,33	0,44±0,19	0,56±0,28	0,38±0,08
LP-HF	1,38±0,18	0,62±0,13 ^[b]	0,56±0,17	0,43±0,10
Machos				
NP-SC	1,58±0,32	0,60±0,15	0,78±0,38	0,37±0,10
NP-HF	1,21±0,24 ^[a]	0,45±0,10	0,54±0,21	0,48±0,09
LP-SC	1,42±0,11	0,44±0,16	0,86±0,07	0,23±0,03 ^[a]
LP-HF	1,49±0,19	0,78±0,29 ^[b,c]	0,57±0,21	0,31±0,08 ^[b]

[a] ≠ NP-SC; [b] ≠ NP-HF; c ≠ LP-SC. Legenda: CT = colesterol total; HDL-c = high density lipoprotein-cholesterol; LDL-c = low density lipoprotein-cholesterol; TG = triglicerídios.

Tabela 6 – Provas de função hepática dos filhotes. Legenda: NP = normal-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; LP = low-protein diet perinatal; SC = standard chow diet pós-natal.

	TGO	TGP	FA	GGT
	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L
Grupos				
Fêmeas				
NP-SC	35,43±9,40	89,29±3,90	41,00±9,24	1,71±0,76
NP-HFC	50,67±7,12 ^[a]	76,50±36,09	39,00±5,87	1,83±1,17
LP-SC	47,43±8,92	95,00±26,56	40,71±3,82	2,86±1,21
LP-HFC	39,78±9,5	75,22±18,80	45,11±7,89	1,89±0,60
Machos				
NP-SC	45,33±9,40	60,17±20,58	51,00±14,32	2,67±1,03
NP-HFC	45,57±8,12	75,71±25,27	41,71±11,50	2,57±0,53
LP-SC	56,00±8,02	88,14±33,78	47,86±6,57	3,14±1,07
LP-HFC	44,80±7,16	65,00±21,38	41,80±7,53	3,20±1,92

[a] ≠ NP-SC; [b] ≠ Np-HF; [c] ≠ LP-SC. Legenda: TGO = transaminase oxalacética ; TGP = transaminase pirúvica; FA = fosfatase alcalina; GGT = gama glutamil transpeptidase.

Quantificação estereológica

A massa do fígado não foi utilizada isoladamente visto que animais de grupos diferentes apresentaram massas corporais muito díspares, o que poderia repercutir sobre a massa dos órgãos. A fim de eliminar esse viés, o comprimento da tíbia foi utilizado como parâmetro de correção. A relação massa do fígado/comprimento da tíbia revelou que a dieta ADE pós-natal exerceu mais influência sobre a massa do fígado do que a restrição protéica perinatal, uma vez que os animais dos grupos NP-HF apresentaram aumento de 29% ($P=0,03$) neste parâmetro em relação aos animais dos grupos LP-SC. Por outro lado, em machos, os animais do grupo LP-HF exibiram os valores mais acentuados da relação massa do fígado/comprimento da tíbia (+28% em relação ao grupo LP-SC, $P=0,001$), ressaltando uma interação entre a programação fetal e a dieta pós-natal na determinação deste resultado.

No que tange ao número de hepatócitos (Tabela 4), fica claro que a restrição protéica durante períodos críticos de desenvolvimento promoveu decréscimo do número de hepatócitos nos animais dos grupos LP-SC (machos: -23%, $P=0,05$ e fêmeas: -35%, $P=0,01$) aos 6 meses de idade, da mesma forma que a dieta ADE pós-natal afetou os machos do grupo NP-HF (-42%, $P=0,0001$). Corroborando com esse resultado, a amplificação dos efeitos adversos da restrição protéica perinatal sobre parâmetros morfológico-quantitativos hepáticos após o consumo crônico de dieta ADE pós-natal aconteceu somente nos machos. Nesse contexto, machos do

grupo LP-HF apresentaram redução acentuada do número total de hepatócitos, sendo esta redução mais expressiva que o déficit apresentado pelos animais do grupo LP-SC (o grupo LP-HF apresentou -34% em comparação com o grupo LP-SC, $P=0,01$). Em contrapartida, quando a relação do número de hepatócitos/massa hepática foi avaliada, os mesmos resultados produziram valores mais elucidativos. Após a referida correção, foi constatado que as fêmeas foram afetadas pela ADE da mesma forma que os machos e também apresentaram diminuição significativa do número de hepatócitos quando comparadas ao grupo NP-SC (-44%, $P=0,05$) (Figura 13).

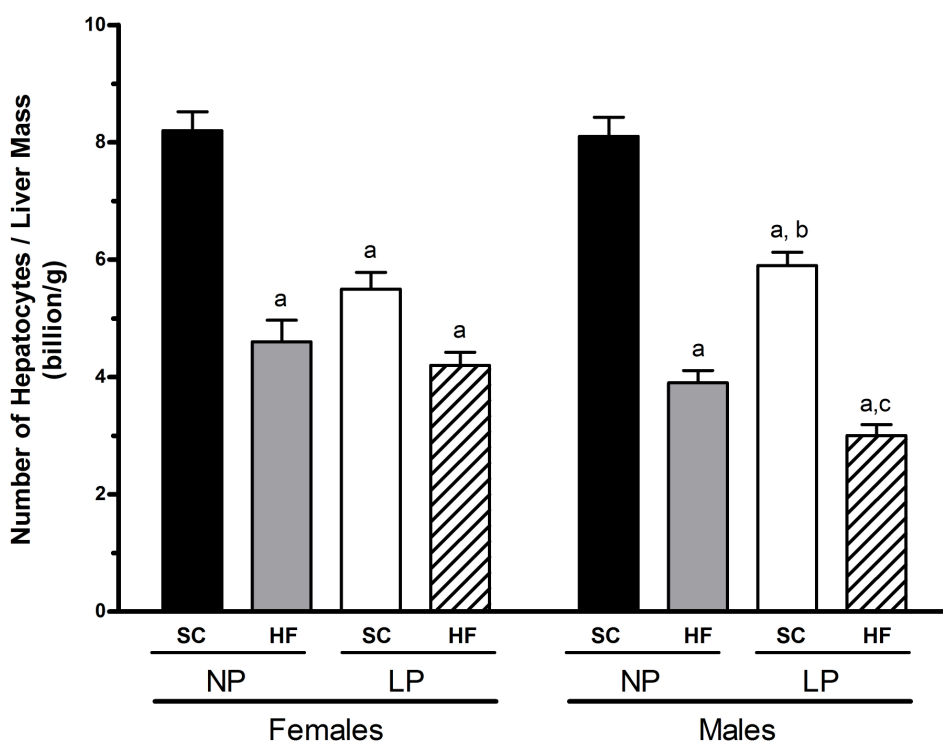


Figura 13 – Número de hepatócitos por unidade de massa hepática dos filhotes aos 6 meses. Legenda: NP = normal-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; LP = low-protein diet perinatal; SC = standard chow diet pós-natal. [a] ≠ NP-SC; [b] ≠ NP-HF; [c] ≠ LP-SC ($P<0,01$)

A esteatose hepática foi um achado recorrente nesse estudo, sendo verificada inclusive nos grupos NP-SC (Figuras 14a e 15). Mais uma vez, a restrição protéica perinatal foi imperativa na determinação de percentuais relevantes de esteatose nos machos (+62%, $P=0,05$) e nas fêmeas (+64%, $P=0,0001$) dos grupos LP-SC. Da mesma forma, a dieta ADE pós-natal foi decisiva no estabelecimento da esteatose nos animais dos grupos NP-HF de ambos os sexos (+75%, $P=0,0001$ nos machos e +59%, $P=0,01$ nas fêmeas). Além disso, os animais dos grupos LP-HF apresentaram maior percentual de esteatose (Figura 14b), sugerindo uma interação entre o ambiente intra-uterino e o pós-natal no desenvolvimento do quadro de esteatose desse. Os machos do grupo LP-HF apresentaram aumento de 57% ($P=0,0001$) quando comparados com os animais do grupo LP-SC, ao passo que as fêmeas do grupo LP-HF exibiram incremento de 43% ($P=0,01$) no acometimento hepático por esteatose, em relação às fêmeas do grupo LP-SC. Esses resultados foram acompanhados pela elevação da taxa de binucleação dos hepatócitos nos grupos NP-HF de ambos os gêneros (+60%, $P=0,01$) e nas fêmeas LP-SC (+56%, $P=0,01$). As figuras 14c e 16 ilustram esses resultados.

A área transversa dos hepatócitos foi um achado adicional que confirmou a influência predominante da dieta ADE pós-natal sobre a estrutura hepática nos machos quando comparados com as fêmeas. Um incremento significativo deste parâmetro foi observado nos machos do grupo NP-HF (+44%, $P=0,01$) e do grupo LP-HF (+26%, $P=0,05$) em relação

aos animais do grupo NP-SC (Figura 17). Por outro lado, somente as fêmeas do grupo LP-HF exibiram resultados equânimes.

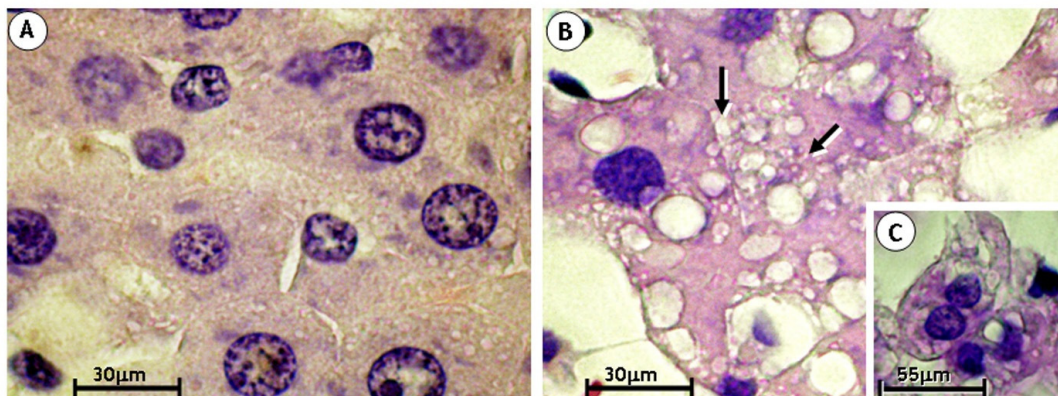


Figura 14 - Esteatose hepática e binucleação de hepatócitos dos animais dos grupos NP-SC e LP-HF. Legenda: NP = normal protein perinatal; LP = low-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; SC = standard chow diet pós-natal.

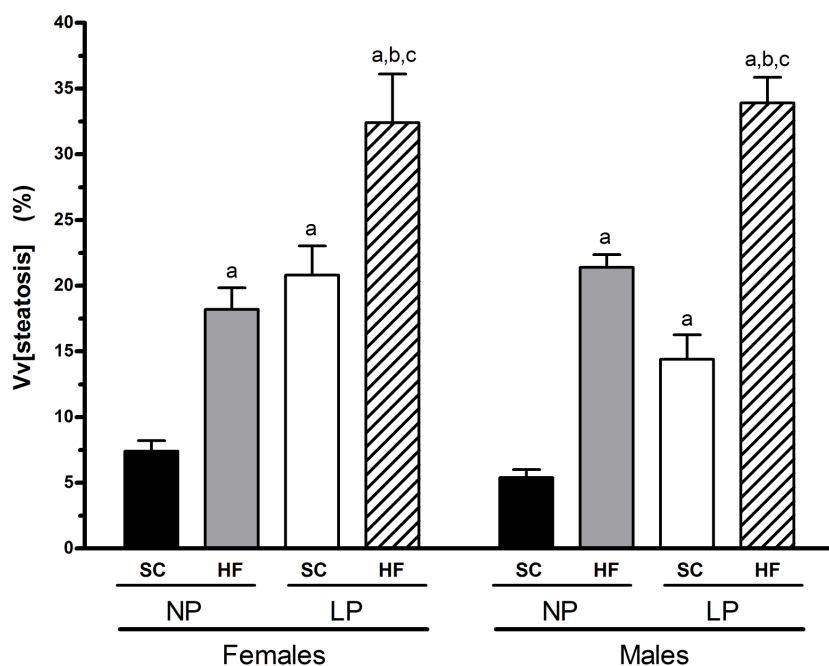


Figura 15 – Densidade de volume de esteatose hepática dos filhotes aos 6 meses. Legenda: NP = normal protein perinatal; LP = low-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; SC = standard chow diet pós-natal. [a] ≠ NP-SC; [b] ≠ NP-HF; [c] ≠ LP-SC ($P < 0,01$)

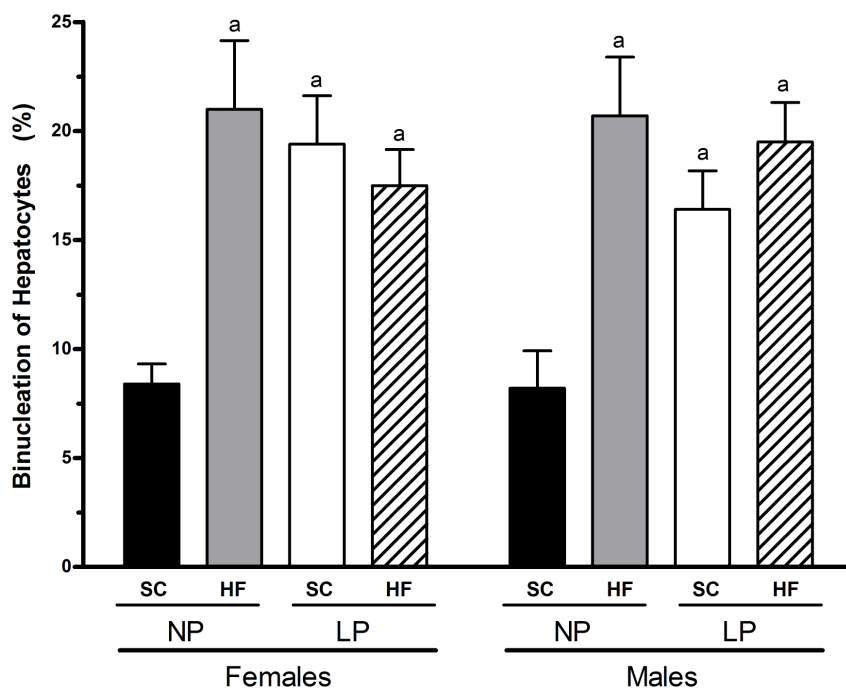


Figura 16 – Taxa de binucleação de hepatócitos dos filhotes aos 6 meses. Legenda: NP = normal protein perinatal; LP = low-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; SC = standard chow diet pós-natal. [a] ≠ NP-SC, $P < 0,01$.

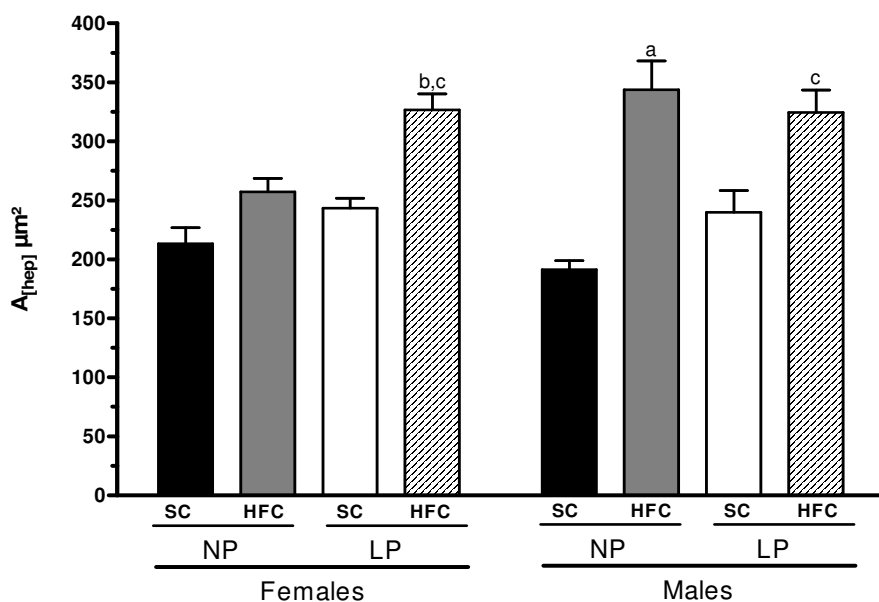


Figura 17 – Área transversa de hepatócitos dos filhotes aos 6 meses. Legenda: NP = normal protein perinatal; LP = low-protein diet perinatal; HF = high-fat diet pós-natal; SC = standard chow diet pós-natal. [a] ≠ NP-SC; [b] ≠ Np-HF; [c] ≠ LP-SC; § ≠ macho do mesmo grupo ($P < 0,05$).

Discussão

Os resultados do presente estudo sugerem que a restrição protéica a 5% durante a gestação e metade da lactação causou decréscimo significativo no número de hepatócitos e aumento da taxa de esteatose hepática em ratos aos 6 meses de idade. A dieta ADE pós-natal maximizou esses efeitos deletérios da programação fetal em ambos os gêneros. Entretanto, a dieta ADE como um estímulo isolado, administrada apenas na fase pós-natal, provocou efeitos similares somente nos machos do grupo NP-HF.

O consumo de dietas hiperenergéticas, caracterizadas por aporte exagerado de lipídios, é um fator preponderante no desenvolvimento de sobrepeso de populações ao redor do mundo (Coatmellec-Taglioni et al., 2000; Colandré et al., 2003). No presente estudo, os animais dos grupos LP-HF mostraram resposta atrasada do ganho ponderal e, provavelmente, esta resposta atrasada foi induzida pela restrição protéica materna ter sido estendida até a lactação. Insultos sofridos durante o início da vida pós-natal tornam roedores resistentes ao ganho de peso, mesmo quando são alimentados com dietas hiperenergéticas e esses efeitos são mais marcantes em machos (Ozanne et al., 2004). Além disso, o dimorfismo sexual pode ser atribuído a maior influência que a programação fetal exerce sobre os machos. Esse fenômeno parece residir no fato de que fêmeas apresentam taxa de crescimento mais lenta durante períodos críticos de desenvolvimento e no provável papel protetor dos estrógenos (Rich-Edwards et al., 1997; de Zegher et al., 1999; Woods et al., 2005).

Neste trabalho, a dieta ADE também maximizou a hiperfagia apresentada por machos que sofreram restrição protéica perinatal, corroborando com o achado de que ocorre programação da preferência por dietas hiperlipídicas no início da vida desses animais (Vickers et al., 2000; Bellinger et al., 2004). Contudo, com o passar do tempo os machos do grupo LP-HF igualam a ingestão energética com seu grupo controle, merecendo destaque que este momento coincide com o ganho ponderal mais acentuado. Isso caracteriza a manifestação do fenótipo econômico a partir do qual a maior eficiência metabólica dos animais que enfrentaram condições intra-uterinas hostis resulta em estoques de energia sob a forma de gordura corporal, ao passo que animais controles mantêm a massa corporal dentro dos limites de normalidade (Hales e Barker, 2001b; Ozanne e Hales, 2002b).

Um resultado desse estudo foi a constatação de que a HAS foi consequência tanto da restrição protéica perinatal quanto da dieta ADE pós-natal, em ambos os gêneros. A HAS secundária ao sobrepeso induzido por dieta hiperenergética depende de um mecanismo complexo. De fato, a resistência à insulina tem um papel ímpar, mas a ativação do sistema nervoso simpático, hiperleptinemia e o SRAA do tecido adiposo exercem papel importante (Dobrian et al., 2000; Coatmellec-Taglioni et al., 2003). Nesse contexto, o aumento crônico da ingestão energética eleva o tônus simpático por meio da hiperleptinemia, as quais conduzem ao aumento marcante do débito cardíaco e retenção de sódio e água, resultando em aumento da pressão arterial. Ademais, o excesso de tecido adiposo ativa o

SRAA por compressão medular, levando à vasodilatação renal crônica e ao aumento da taxa de filtração glomerular, prejudicando a função glomerular e causando nefrosclerose em longo prazo (Hall et al., 1998; Hall et al., 2001; Rahmouni et al., 2004). A identificação do SRAA local no tecido adiposo forneceu uma relação entre sobrepeso e HAS, à medida que o aumento da expressão da angiotensina II contribui para a hipertensão glomerular e alterações estruturais renais. Estas alterações exacerbam a HAS induzida pelo sobrepeso e culmina com a perda de néfrons (Engeli et al., 2000; Boustany et al., 2004). Essa hipótese condiz com os resultados do presente estudo, onde os animais com valores mais expressivos de gordura retroperitoneal (animais dos grupos NP-HF e LP-HF), indicativo de gordura visceral, apresentaram níveis pressóricos maiores em comparação com seus respectivos controles (animais dos grupos NP-SC e LP-SC).

Um acúmulo excessivo de tecido adiposo retroperitoneal e genital foi detectado nos animais dos grupos NP-HF e LP-HF quando comparados aos animais dos grupos NP-SC e LP-SC, respectivamente. Logo, a ingestão exagerada de lipídios foi eficaz em promover acúmulo de tecido adiposo (Fan et al., 2005), ao passo que insultos perinatais vêm sendo associados com uma redução de 30% dessas coleções de gordura (Rees et al., 2006). No presente estudo, machos do grupo LP-HF apresentaram depósitos menos expressivos de gordura em comparação aos animais do grupo NP-HF, o que sugere que a influência da restrição protéica perinatal sobre esse parâmetro é suprema nos machos, superando a ação da dieta ADE pós-natal em aumentar os estoques de tecido adiposo (Holness e Sugden,

1999). Em contrapartida, as fêmeas foram mais propensas ao acúmulo de gordura na região genital, conforme observado, devido talvez, às maiores taxas de lipogênese registradas quando seus adipócitos são analisados “*in vitro*” (Rees et al., 2006).

No caso dos animais do grupo LP-SC, a HAS pode ser muito mais fundamentada na redução do número de néfrons ao nascimento do que em qualquer outra alteração metabólica, conforme demonstrado em estudos prévios do nosso laboratório (Almeida e Mandarim-de-Lacerda, 2005; Pires e Mandarim-de-Lacerda, 2006). O déficit de unidades funcionais no rim promove redução da área de superfície de filtração e diminuição marcante da taxa de filtração glomerular. Essas alterações estimulam a hipertrofia glomerular e hiperfiltração compensatórias a fim de reduzir a retenção de sódio e manter o controle da PA. Contudo, tais adaptações causam nefrosclerose, a qual reduz ainda mais o número de néfrons e conduz a um aumento gradual e contínuo da PA (Langley-Evans et al., 1999; Woods, 2000; Woods et al., 2001; Woods et al., 2004). Conseqüentemente, fica evidente que a dieta ADE iniciada após o desmame, foi desfavorável para os animais do grupo LP-HF, pois intensificou os efeitos nocivos da programação fetal e como resultado eles exibiram valores mais elevados da PA durante todo o experimento.

Embora a HAS advenha de mecanismos distintos na programação fetal e no sobrepeso induzido por dieta ADE, o presente trabalho foi pioneiro ao indicar que os níveis pressóricos promovidos por ambos os estímulos de

forma isolada são equiparáveis, sugerindo uma equivalência do risco de DCV oriundo desses modelos experimentais.

No que tange às análises bioquímicas, embora algumas diferenças significativas tenham sido apontadas entre os grupos de estudos no que se refere ao perfil lipídico e à glicemia, essas não foram relevantes já que os valores se encontraram dentro da faixa de normalidade. Por outro lado, valores anormais de TGO e TGP foram evidenciados, os quais foram compatíveis com os achados histológicos (Angulo, 2002).

A abordagem estereológica propiciou informações relevantes no que concerne ao impacto da programação fetal sobre a estrutura hepática. Vale ressaltar que a técnica de contagem de pontos foi escolhida baseada na sua maior reprodutibilidade e adequação para a estimativa acurada do grau de esteatose hepática (Franzen et al., 2005). Apesar da falta de relatos na literatura relativos a esse assunto, já está bem estabelecido que o fígado é um dos órgãos mais acometidos pela programação fetal, juntamente com o pâncreas (Desai et al., 1996; Desai et al., 2005). Nosso estudo demonstrou redução significativa do número de hepatócitos aos seis meses de idade nos animais do grupo LP-SC, a qual pode ser reflexo do seu tamanho reduzido ao nascer. Muito embora o fígado seja um órgão passível de regeneração, proles restritas em proteína exibem menos lóbulos hepáticos ao nascer. Ainda que esses lóbulos sejam maiores que os dos animais controle, esse achado pode denotar um déficit de hepatócitos desde o nascimento (Hales e Ozanne, 2003; McMillen e Robinson, 2005).

Além de alterações estruturais, a restrição protéica compromete a capacidade proliferativa dos hepatócitos por meio de redução dos níveis de IGF-1 e aumento dos IGFBPs ao nascimento. Essa modificação do eixo do IGF cursa com decréscimo de 30% na síntese do DNA de hepatócitos, comprometendo a proliferação dessas células. Esses efeitos anti-proliferativos advêm em grande parte da superexposição do feto aos glicocorticóides maternos e da reduzida síntese de insulina pelo concepto desnutrido, hormônio crucial para o crescimento das células hepáticas (El-Khattabi et al., 2003; Drake et al., 2005). O déficit de hepatócitos observados em animais restritos aos seis meses de idade pode apresentar relação também com o mecanismo apoptótico nessas proles secundário ao aumento do estresse oxidativo hepático. Ambas as condições resultam em perda precoce da função tecidual, reduzindo a expectativa de vida de animais programados metabolicamente (Franco Mdo et al., 2002; Langley-Evans e Sculley, 2005). Não devem ser descartadas também as taxas elevadas de binucleação encontradas nos animais dos grupos LP-SC e NP-HF, as quais são ilustrativas de insucessos no processo de proliferação de hepatócitos. Hepatócitos binucleados resultam de processos mitóticos incompletos e conduzem à perda progressiva da capacidade de replicação e à senescência celular (Mossin et al., 1994; Gandillet et al., 2003; Guidotti et al., 2003).

Outro achado relevante do presente trabalho foi a amplificação da perda de hepatócitos nos machos alimentados com dieta ADE que sofreram restrição protéica perinatal, ressaltando os efeitos mais drásticos da

programação fetal sobre machos (Rich-Edwards et al., 1997; Coatmellec-Taglioni et al., 2003; Woods et al., 2005). De forma similar, dietas hiperenergéticas repercutem de maneira mais negativa sobre o metabolismo de machos (Coatmellec-Taglioni et al., 2002, 2003), o que também justifica esse nosso achado. O aumento da ingestão lipídica apresenta correlação direta com quantidades mais proeminentes de tecido adiposo, o qual foi recentemente descrito como um órgão metabolicamente ativo e de função endócrina (Kershaw e Flier, 2004).

Desta função atribuída recentemente ao tecido adiposo advém uma justificativa plausível para a perda acentuada de hepatócitos resultante da interação da restrição protéica perinatal com ingestão exagerada de lipídios pós-natal. Esta se baseia no fato de que uma das adipocinas secretada mais ativamente pelo tecido adiposo é o TNF- α (Lafontan, 2005), o qual inibe a expressão do PPAR- α no fígado e reduz a β -oxidação no interior dos hepatócitos. Essas ações desempenham papel ímpar na síntese de espécies reativas de oxigênio, as quais ativam a apoptose pela via mitocondrial. Logo, o déficit de hepatócitos programado no período perinatal pode ser intensificado pela acentuada desregulação do mecanismo apoptótico (Dobrian et al., 2001; Schattenberg et al., 2006; Svegliati-Baroni et al., 2006). Ademais, os AGS, uma das classes predominantes dos lipídios constituintes da dieta ADE utilizada, são capazes de deflagrar a apoptose e reduzir a capacidade proliferativa do fígado (Wang et al., 2006), justificando a redução do número de hepatócitos observada nos grupos LP-HF.

Um ponto crucial nesse estudo foi a quantificação do conteúdo de lipídios nos hepatócitos. A esteatose hepática acomete uma parcela significativa da população mundial, ainda que na sua forma subclínica (Bellentani et al., 2000; Brunt, 2004). Apesar de começar como um processo benigno, o acúmulo de gordura torna o fígado mais susceptível a uma variedade de danos histológicos. De fato, a progressão da esteatose conduz a estágios terminais de doença hepática como cirrose, carcinoma hepatocelular e, inevitavelmente falência hepática (Bayard et al., 2006). Porém, quando a esteatose está associada à SM, está mais implicada em intensificar o acometimento do metabolismo da glicose (Marceau et al., 1999).

A presença de esteatose hepática nos animais que sofreram restrição protéica perinatal e foram alimentados com dieta ADE ao longo da vida foi um achado inédito na literatura, porém parece ter suas bases nos mecanismos que seguem. A restrição protéica perinatal causa resistência à insulina por meio de redução da massa de células β -pancreáticas e por alterações irreversíveis na regulação de enzimas hepáticas (Garofano et al., 1997; Murphy et al., 2003). Nesse contexto, um aumento da produção de glicose pelo fígado é observado à custa de uma expressão exagerada da enzima PEPCK (aumenta a gliconeogênese) concomitante com uma expressão reduzida da glicoquinase (suprime a captação de glicose pelo fígado) (Burns et al., 1997; Murphy et al., 2003). A literatura postula que a resistência à insulina desempenha papéis antagônicos no tecido adiposo e no fígado. No primeiro, ocorre o estímulo da lipólise, acompanhado pelo

aumento do fornecimento de AGL para o fígado via veia porta, enquanto que no fígado, ocorre inibição da metabolização hepática dos AGL por meio da β -oxidação (Koteish e Diehl, 2001; den Boer et al., 2004; Festi et al., 2004). Nos nossos resultados, observamos que os animais dos grupos LP-SC cursaram com aumento do “*input*” e decréscimo do “*output*” de lipídios no fígado e, ainda que especulativos, esses mecanismos corroboraram com o elevado acometimento do tecido hepático por esteatose nesses animais.

Paralelamente às alterações desencadeadas pela restrição protéica perinatal, a dieta ADE compromete o eixo adipoinsular pelo estabelecimento de resistência à insulina, a qual ocorre frente ao incremento da massa adiposa (Holness e Sugden, 1999). A hiperleptinemia resultante de grandes quantidades de tecido adiposo torna a leptina ineficaz no que se refere ao seu efeito supressor sobre a produção de insulina pelo pâncreas endócrino (Holness et al., 1999; Breier et al., 2001). Dessa forma, a resistência à insulina e hiperinsulinemia compensatória ocorre pelos mesmos mecanismos descritos acima. Após certo grau de esteatose, a resistência hepática à insulina é detectada e esta agrava a resistência global a ação desse hormônio, exacerbando ainda mais a esteatose hepática e os demais componentes da SM (Festi et al., 2004). A partir do exposto, fica evidente a razão do acometimento mais proeminente da estrutura hepática dos animais do grupo LP-HF, sendo seus resultados condizentes com grau 2 de esteatose hepática, ou seja,

mais de 33% do volume hepático ocupado por glóbulos de gordura (Brunt et al., 1999).

Outro fato que deve ser considerado na intensificação do quadro de esteatose encontrado nos grupos NP-HF e LP-HF, é o fato de que a dieta ADE apresenta conteúdo lipídico elevado de AGS, os quais vêm sendo descritos como fatores promotores de esteatose hepática (Wang et al., 2006). Nesse contexto, o ganho ponderal induzido por tais dietas promove aumento dos níveis circulantes de TNF- α , o qual provoca hipoadiponectinemia, acentua a resistência à insulina, reduz a biodisponibilidade de enzimas mitocondriais antiinflamatórias e antioxidantes (Festi et al., 2004; Lafontan, 2005). Um estudo recente demonstrou que a administração de óleo de peixe (fonte principalmente de ácido docosahexaenóico – DHA) a roedores com esteatose hepática induzida por dieta rica em AGS é capaz de amenizar a injúria hepática. Por ser um agonista PPAR- α , o DHA eleva a adiponectinemia, aumentando a sensibilidade à insulina e reduzindo o “*input*” de AG no fígado. O aumento do “*output*” também é observado devido à ativação do PPAR- α e estímulo da β -oxidação (Hashimoto et al., 2000; Svegliati-Baroni et al., 2006). Outras ações importantes do DHA são a redução dos níveis de TNF- α e a inibição da apoptose, impedindo a progressão para NASH nos casos em que a NAFLD já está instalada (Svegliati-Baroni et al., 2006).

Em ratos alimentados com dieta ADE uma redução do acúmulo de lipídio muscular e melhora da resistência à insulina foi observado após a administração de agonista PPAR- α sintético (Ye et al., 2001). Contudo,

agonistas PPAR- γ , envolvidos na diferenciação de adipócitos, exibem efeitos ainda mais promissores quando administrados ao mesmo modelo experimental. Além de reduzirem os depósitos de gordura ectópicos, os agonistas PPAR- γ atuam também no combate à gordura abdominal (Ye et al., 2003). Recentemente, a associação de agonistas PPAR- α /PPAR- γ promoveu efeitos benéficos adicionais ao combater o desenvolvimento da esteatose, da resistência hepática à insulina e da adiposidade visceral fundamentados na manutenção da atividade periférica da insulina e níveis circulantes elevados de adiponectina. Este procedimento tem grande validade terapêutica já que não promoveu hepatomegalia, efeito observado após a utilização isolada de agonista PPAR- α sintético (Zimmerman e Ishak, 1982; Holden e Tugwood, 1999). Todas essas observações reforçam a hipótese de que a dieta ADE é capaz de intensificar o acometimento hepático de animais programados metabolicamente, mesmo que o presente estudo seja o primeiro na literatura ao relatar tal associação.

Outro aspecto de grande interesse foi a constatação que os animais dos grupos LP-HF exibiram os maiores valores da relação massa do fígado/comprimento da tibia, ainda que tenham apresentado menos hepatócitos que os demais grupos. Essa controvérsia pode ser explicada pelo fato de que suas células eram mais hipertrofiadas, o que foi detectado por meio da medida da área transversa de hepatócitos e pelo fato de que grande parte do citoplasma dessas células constava de macrovesículas e/ou microvesículas de gordura. Dessa forma, um número inexpressivo de células ocupava um maior volume hepático quando comparados aos

demais grupos. A área transversa de hepatócitos serviu ainda para confirmar o menor impacto da dieta ADE sobre a arquitetura hepática das fêmeas, já que apenas machos do grupo LP-HF cursaram com aumento deste parâmetro.

À luz do exposto, nossos resultados apontam para evidências de que a HAS e a esteatose hepática podem ser programadas por restrição protéica materna e que essas condições podem ser intensificadas ainda mais pela adoção de dieta com alto conteúdo de lipídios pós-desmame. Todas essas observações servem para ratificar a inegável importância que fatores ambientais desempenham na gênese e na progressão de doenças crônicas, as quais vêm contribuindo de forma exponencial para as taxas de mortalidade e implicam gastos irreparáveis aos sistemas de saúde. Logo, ações profiláticas no que concerne à assistência pré-natal e ao desenvolvimento de programas que incentivem a adoção de um estilo de vida saudável desde a infância precoce aparecem como estratégias pertinentes ao contorno da pandemia atual de doenças crônicas.

Conclusão

A restrição protéica (5%) perinatal promove nos filhotes:

- a) Baixo peso e redução do comprimento naso-anal ao nascer;
- b) HAS leve a partir dos 3 meses de idade;
- c) Redução do número de hepatócitos; aumento do percentual de binucleação de hepatócitos e esteatose hepática grau 1 aos 6 meses de idade.

A dieta ADE administrada a ratos não programados induz:

- a) Sobrepeso após 8 semanas;
- b) HAS leve a partir dos 3 meses de idade;
- c) Maior deposição de gordura na região retroperitoneal e genital;
- d) Redução do número de hepatócitos aos 6 meses; aumento do percentual de binucleação de hepatócitos e esteatose hepática grau 1 aos 6 meses de idade;

A dieta ADE somada à restrição protéica perinatal promove nos filhotes:

- a) Amplificação do ganho ponderal apenas nas fêmeas;
- b) Intensificação da HAS observada no grupo LP-SC em ambos os gêneros;
- c) Aumento da deposição de gordura com relação ao grupo LP-SC em ambos os gêneros;
- d) Redução adicional do número de hepatócitos com relação ao grupo LP-SC apenas em machos; desenvolvimento de esteatose hepática grau 2 em ambos os gêneros aos 6 meses de idade.

Referências

- Adams LA, Angulo P. Recent concepts in non-alcoholic fatty liver disease. *Diabet Med* 2005; 22:1129-1133.
- Aerts L, Van Assche FA. Intra-uterine transmission of disease. *Placenta* 2003; 24:905-911.
- Aguila MB, Pinheiro Ada R, Parente LB, Mandarim-de-Lacerda CA. Dietary effect of different high-fat diet on rat liver stereology. *Liver Int* 2003; 23:363-370.
- Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 2000; 62:413-437.
- Akbar DH, Kawther AH. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome: what we know and what we don't know. *Med Sci Monit* 2006; 12:RA23-26.
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet* 2005; 366:1059-1062.
- Allison DB, Egan SK, Barraj LM, Caughman C, Infante M, Heimbach JT. Estimated intakes of trans fatty and other fatty acids in the US population. *J Am Diet Assoc* 1999; 99:166-174; quiz 175-166.
- Almeida JR, Mandarim-de-Lacerda CA. Maternal gestational protein-calorie restriction decreases the number of glomeruli and causes glomerular hypertrophy in adult hypertensive rats. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192:945-951.
- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346:1221-1231.
- 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* 2000; 16:349-354.
- Barker DJ. Outcome of low birthweight. *Horm Res* 1994; 42:223-230.
- Barker DJ. Fetal origins of coronary heart disease. *Bmj* 1995; 311:171-174.
- Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond)* 1998; 95:115-128.
- Barker DJ. Fetal programming of coronary heart disease. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13:364-368.

- Barker DJ, Clark PM. Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev Reprod* 1997; 2:105-112.
- Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1986; 1:1077-1081.
- Barker DJ, Osmond C, Simmonds SJ, Wield GA. The relation of small head circumference and thinness at birth to death from cardiovascular disease in adult life. *Bmj* 1993; 306:422-426.
- Bayard M, Holt J, Boroughs E. Nonalcoholic fatty liver disease. *Am Fam Physician* 2006; 73:1961-1968.
- Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Corce L, Brandi G, Sasso F, Cristanini G, Tribelli C. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med* 2000; 132:112-117.
- Bellinger L, Lilley C, Langley-Evans SC. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *Br J Nutr* 2004; 92:513-520.
- Berney DM, Desai M, Palmer DJ, Greenwald S, Brown A, Hales CN, Berry CL. The effects of maternal protein deprivation on the fetal rat pancreas: major structural changes and their recuperation. *J Pathol* 1997; 183:109-115.
- Bertram CE, Hanson MA. Animal models and programming of the metabolic syndrome. *Br Med Bull* 2001; 60:103-121.
- Bieswal F, Ahn MT, Reusens B, Holvoet P, Raes M, Rees WD, Remacle C. The importance of catch-up growth after early malnutrition for the programming of obesity in male rat. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14:1330-1343.
- Bishop-Bailey D. Peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol* 2000; 129:823-834.
- Bloomgarden ZT. Obesity, hypertension, and insulin resistance. *Diabetes Care* 2002; 25:2088-2097.
- Boustany CM, Bharadwaj K, Daugherty A, Brown DR, Randall DC, Cassis LA. Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287:R943-949.

- Boustany CM, Brown DR, Randall DC, Cassis LA. AT1-receptor antagonism reverses the blood pressure elevation associated with diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 289:R181-186.
- Brawley L, Poston L, Hanson MA. Mechanisms underlying the programming of small artery dysfunction: review of the model using low protein diet in pregnancy in the rat. *Arch Physiol Biochem* 2003; 111:23-35.
- Breier BH, Vickers MH, Ikenasio BA, Chan KY, Wong WP. Fetal programming of appetite and obesity. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 185:73-79.
- Brenner BM, Garcia DL, Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *Am J Hypertens* 1988; 1:335-347.
- Brunt E, Janney C, Di Bisceglie A, Neuschwander-Tetri B, Bacon B. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroent* 1999; 94:2467-2474.
- Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2004; 24:3-20.
- Brunt EM. Pathology of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2005; 33:68-71.
- Burns SP, Desai M, Cohen RD, Hales CN, Iles RA, Germain JP, Going TC, Bailey RA. Gluconeogenesis, glucose handling, and structural changes in livers of the adult offspring of rats partially deprived of protein during pregnancy and lactation. *J Clin Invest* 1997; 100:1768-1774.
- Burns SP, Regan G, Murphy HC, Kinchesh P. Fetal programming of hepatic lobular architecture in the rat demonstrated ex vivo with magnetic resonance imaging. *NMR Biomed* 2000; 13:82-91.
- Carmiel-Haggai M, Cederbaum AI, Nieto N. A high-fat diet leads to the progression of non-alcoholic fatty liver disease in obese rats. *Faseb J* 2005; 19:136-138.
- Coatmellec-Taglioni G, Dausse JP, Giudicelli Y, Ribiere C. Gender difference in diet-induced obesity hypertension: implication of renal alpha2-adrenergic receptors. *Am J Hypertens* 2002; 15:143-149.
- Coatmellec-Taglioni G, Dausse JP, Giudicelli Y, Ribiere C. Sexual dimorphism in cafeteria diet-induced hypertension is associated with gender-related difference in renal leptin receptor down-regulation. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 305:362-367.

- Coatmellec-Taglioni G, Dausse JP, Ribiere C, Giudicelli Y. Hypertension in cafeteria-fed rats: alterations in renal alpha2-adrenoceptor subtypes. *Am J Hypertens* 2000; 13:529-534.
- Colandré M, Diez R, Bernal C. Metabolic effects of trans fatty acids on an experimental dietary model. *Br J Nutr* 2003; 89:631-638.
- Corstius HB, Zimanyi MA, Maka N, Herath T, Thomas W, van der Laarse A, Wreford NG, Black MJ. Effect of intrauterine growth restriction on the number of cardiomyocytes in rat hearts. *Pediatr Res* 2005; 57:796-800.
- Cripps RL, Martin-Gronert MS, Ozanne SE. Fetal and perinatal programming of appetite. *Clin Sci (Lond)* 2005; 109:1-11.
- Das UN. Pathophysiology of metabolic syndrome X and its links to the perinatal period. *Nutrition* 2005; 21:762-773.
- de Boo HA, Harding JE. The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006; 46:4-14.
- de Zegher F, Devlieger H, Eeckels R. Fetal growth: boys before girls. *Horm Res* 1999; 51:258-259.
- den Boer M, Voshol PJ, Kuipers F, Havekes LM, Romijn JA. Hepatic steatosis: a mediator of the metabolic syndrome. Lessons from animal models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:644-649.
- Desai M, Byrne CD, Zhang J, Petry CJ, Lucas A, Hales CN. Programming of hepatic insulin-sensitive enzymes in offspring of rat dams fed a protein-restricted diet. *Am J Physiol* 1997; 272:G1083-1090.
- Desai M, Crowther NJ, Lucas A, Hales CN. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. *Br J Nutr* 1996; 76:591-603.
- Desai M, Gayle D, Babu J, Ross MG. Permanent reduction in heart and kidney organ growth in offspring of undernourished rat dams. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193:1224-1232.
- Diehl AM. Lessons from animal models of NASH. *Hepatol Res* 2005; 33:138-144.
- Dobrian AD, Davies MJ, Prewitt RL, Lauterio TJ. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension* 2000; 35:1009-1015.

- Dobrian AD, Davies MJ, Schriver SD, Lauterio TJ, Prewitt RL. Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension. *Hypertension* 2001; 37:554-560.
- Dobrian AD, Schriver SD, Lynch T, Prewitt RL. Effect of salt on hypertension and oxidative stress in a rat model of diet-induced obesity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285:F619-628.
- Drake AJ, Walker BR, Seckl JR. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288:R34-38.
- Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; 365:1415-1428.
- El-Khattabi I, Gregoire F, Remacle C, Reusens B. Isocaloric maternal low-protein diet alters IGF-I, IGFBPs, and hepatocyte proliferation in the fetal rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285:E991-E1000.
- Engeli S, Negrel R, Sharma A. Physiology and Pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system. *Hypertension* 2000; 35:1270-1277.
- Fan JG, Zhu J, Li XJ, Chen L, Lu YS, Li L, Dai F, Li F, Chen SY. Fatty liver and the metabolic syndrome among Shanghai adults. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20:1825-1832.
- Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE. Mechanisms by which poor early growth programs type-2 diabetes, obesity and the metabolic syndrome. *Physiol Behav* 2006; 88:234-243.
- Festi D, Colecchia A, Sacco T, Bondi M, Roda E, Marchesini G. Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance. *Obes Rev* 2004; 5:27-42.
- Franco Mdo C, Dantas AP, Akamine EH, Kawamoto EM, Fortes ZB, Scavone C, Tostes RC, Carvalho MH, Nigro D. Enhanced oxidative stress as a potential mechanism underlying the programming of hypertension in utero. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 40:501-509.
- Franzen LE, Ekstedt M, Kechagias S, Bodin L. Semiquantitative evaluation overestimates the degree of steatosis in liver biopsies: a comparison to stereological point counting. *Mod Pathol* 2005; 18:912-916.

- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.
- Gandillet A, Alexandre E, Holl V, Royer C, Bischoff P, Cinqualbre J, Wolf P, Jaeck D, Richert L. Hepatocyte ploidy in normal young rat. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2003; 134:665-673.
- Garofano A, Czernichow P, Breant B. Effect of ageing on beta-cell mass and function in rats malnourished during the perinatal period. *Diabetologia* 1999; 42:711-718.
- Garofano A, Czernichow P, Bréant B. In utero undernutrition impairs beta-cell development. *Diabetologia* 1997; 40:1231-1234.
- Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2000; 106:453-458.
- Gluckman PD, Hanson MA. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15:183-187.
- Godfrey KM, Barker DJ. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1344S-1352S.
- Godfrey KM, Barker DJ. Fetal programming and adult health. *Public Health Nutr* 2001; 4:611-624.
- Godfrey KM, Forrester T, Barker DJ, Jackson AA, Landman JP, Hall JS, Cox V, Osmond C. Maternal nutritional status in pregnancy and blood pressure in childhood. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:398-403.
- Grisk O, Rettig R. Interactions between the sympathetic nervous system and the kidneys in arterial hypertension. *Cardiovasc Res* 2004; 61:238-246.
- Grundey SM, Abate N, Chandalia M. Diet composition and the metabolic syndrome: what is the optimal fat intake? *Am J Med* 2002; 113 Suppl 9B:25S-29S.
- Guidotti JE, Bregerie O, Robert A, Debey P, Brechot C, Desdouets C. Liver cell polyploidization: a pivotal role for binuclear hepatocytes. *J Biol Chem* 2003; 278:19095-19101.
- Gundersen HJ. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: the edge effect. *J Microsc* 1977; 111:219-227.

- Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Apmis* 1988; 96:379-394.
- Haag M, Dippenaar NG. Dietary fats, fatty acids and insulin resistance: short review of a multifaceted connection. *Med Sci Monit* 2005; 11:RA359-367.
- Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull* 2001a; 60:5-20.
- Hales CN, Barker DJ, Clark PM, Cox LJ, Fall C, Osmond C, Winter PD. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *Bmj* 1991; 303:1019-1022.
- Hales CN, Barker DJP. The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin* 2001b; 60:5-20.
- Hales CN, Desai M, Ozanne SE, Crowther NJ. Fishing in the stream of diabetes: from measuring insulin to the control of fetal organogenesis. *Biochem Soc Trans* 1996; 24:341-350.
- Hales CN, Ozanne SE. The dangerous road of catch-up growth. *J Physiol* 2003; 547:5-10.
- Hall J, Brands M, Henegar J, Shek E. Abnormal kidney function as a cause and a consequence of obesity hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1998; 25:58-64.
- Hall J, Hildebrandt D, Kuo J. Obesity hypertension: role of leptin and sympathetic nervous system. *Am J Hypert* 2001; 14:103S-115S.
- Hall JE. The kidney, hypertension, and obesity. *Hypertension* 2003; 41:625-633.
- Hall JE, Kuo JJ, da Silva AA, de Paula RB, Liu J, Tallam L. Obesity-associated hypertension and kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12:195-200.
- Hashimoto T, Cook WS, Qi C, Yeldandi AV, Reddy JK, Rao MS. Defect in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-inducible fatty acid oxidation determines the severity of hepatic steatosis in response to fasting. *J Biol Chem* 2000; 275:28918-28928.
- Haynes W, Sivitz W, Morgan D, Walsh S, Mark A. Sympathetic and cardiorenal actions of leptin. *Hypertension* 1997; 30:619-623.
- Holden PR, Tugwood JD. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha: role in rodent liver cancer and species differences. *J Mol Endocrinol* 1999; 22:1-8.

- Holemans K, Aerts L, Van Assche FA. Lifetime consequences of abnormal fetal pancreatic development. *J Physiol* 2003; 547:11-20.
- Holmes MC, Yau JL, Kotelevtsev Y, Mullins JJ, Seckl JR. 11 Beta-hydroxysteroid dehydrogenases in the brain: two enzymes two roles. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1007:357-366.
- Holness MJ. The influence of sub-optimal protein nutrition on insulin hypersecretion evoked by high-energy/high-fat feeding in rats. *FEBS Lett* 1996; 396:53-56.
- Holness MJ, Fryer LG, Sugden MC. Protein restriction during early development enhances insulin responsiveness but selectively impairs sensitivity to insulin at low concentrations in white adipose tissue during a later pregnancy. *Br J Nutr* 1999; 81:481-489.
- Holness MJ, Sugden MC. Antecedent protein restriction exacerbates development of impaired insulin action after high-fat feeding. *Am J Physiol* 1999; 276:E85-93.
- Hoppin AG. Obesity and the liver: developmental perspectives. *Semin Liver Dis* 2004; 24:381-387.
- Hoy WE, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Cass A, Johnson K, Bertram JF. A stereological study of glomerular number and volume: preliminary findings in a multiracial study of kidneys at autopsy. *Kidney Int Suppl* 2003:S31-37.
- Hoy WE, Hughson MD, Bertram JF, Douglas-Denton R, Amann K. Nephron number, hypertension, renal disease, and renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:2557-2564.
- Hu FB, Manson JE, Willett WC. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *J Am Coll Nutr* 2001; 20:5-19.
- Hughson M, Farris AB, 3rd, Douglas-Denton R, Hoy WE, Bertram JF. Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. *Kidney Int* 2003; 63:2113-2122.
- IBGE. Pesquisas de orçamentos familiares 2002-2003: primeiros resultados: Brasil e grandes regiões. *IBGE / Coordenação de índices de preços* 2004.
- Ingelfinger JR, Woods LL. Perinatal programming, renal development, and adult renal function. *Am J Hypertens* 2002; 15:46S-49S.
- James WP. Will feeding mothers prevent the Asian metabolic syndrome epidemic? *Asia Pac J Clin Nutr* 2002; 11 Suppl 3:S516-523.

- Julius S, Valentini M, Palatini P. Overweight and hypertension : a 2-way street?
Hypertension 2000; 35:807-813.
- Kaplan NM, Opie LH. Controversies in hypertension. *Lancet* 2006; 367:168-176.
- Kassab S, Kato T, Wilkins FC, Chen R, Hall JE, Granger JP. Renal denervation attenuates the sodium retention and hypertension associated with obesity.
Hypertension 1995; 25:893-897.
- Keller G, Zimmer G, Mall G, Ritz E, Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. *N Engl J Med* 2003; 348:101-108.
- Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2548-2556.
- Kieffer TJ, Habener JF. The adipoinsular axis: effects of leptin on pancreatic beta-cells.
Am J Physiol Endocrinol Metab 2000; 278:E1-E14.
- Kirsch R, Clarkson V, Shephard EG, Marais DA, Jaffer MA, Woodburne VE, Kirsch RE, Hall Pde L. Rodent nutritional model of non-alcoholic steatohepatitis: species, strain and sex difference studies. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18:1272-1282.
- Koteish A, Diehl AM. Animal models of steatosis. *Semin Liver Dis* 2001; 21:89-104.
- Kris-Etherton PM, Yu S, Etherton TD, Morgan R, Moriarty K, Shaffer D. Fatty acids and progression of coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:1088-1090.
- Lafontan M. Fat cells:Afferents and efferents messages define new approaches to treat obesity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45:119-146.
- Landsberg L. Feast or Famine: The Sympathetic Nervous System Response to Nutrient Intake. *Cell Mol Neurobiol* 2006.
- Langley-Evans SC. Developmental programming of health and disease. *Proc Nutr Soc* 2006; 65:97-105.
- Langley-Evans SC, Langley-Evans AJ, Marchand MC. Nutritional programming of blood pressure and renal morphology. *Arch Physiol Biochem* 2003; 111:8-16.
- Langley-Evans SC, Sculley DV. Programming of hepatic antioxidant capacity and oxidative injury in the ageing rat. *Mech Ageing Dev* 2005; 126:804-812.

- Langley-Evans SC, Welham SJ, Jackson AA. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. *Life Sci* 1999; 64:965-974.
- Langley-Evans SC, Welham SJ, Sherman RC, Jackson AA. Weanling rats exposed to maternal low-protein diets during discrete periods of gestation exhibit differing severity of hypertension. *Clin Sci (Lond)* 1996; 91:607-615.
- Lieber CS, Leo MA, Mak KM, Xu Y, Cao Q, Ren C, Ponomarenko A, DeCarli LM. Model of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:502-509.
- Lu LG, Zeng MD, Li JQ, Hua J, Fan JG, Fan ZP, Qiu DK. Effect of lipid on proliferation and activation of rat hepatic stellate cells (I). *World J Gastroenterol* 1998; 4:497-499.
- Lucas A. Programming by early nutrition in man. *Ciba Found Symp* 1991; 156:38-50; discussion 50-35.
- Manalich R, Reyes L, Herrera M, Melendi C, Fundora I. Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study. *Kidney Int* 2000; 58:770-773.
- Mancia G, Grassi G, Giannattasio C, Seravalle G. Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension* 1999; 34:724-728.
- Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cienc* 2003; 75:469-486.
- Marceau P, Biron S, Hould FS, Marceau S, Simard S, Thung SN, Kral JG. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1513-1517.
- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50:1844-1850.
- McMillen IC, Adam CL, Muhlhausler BS. Early Origins of Obesity: Programming the Appetite Regulatory System. *J Physiol* 2005.
- McMillen IC, Robinson JS. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev* 2005; 85:571-633.

- Merezak S, Hardikar AA, Yajnik CS, Remacle C, Reusens B. Intrauterine low protein diet increases fetal beta-cell sensitivity to NO and IL-1 beta: the protective role of taurine. *J Endocrinol* 2001; 171:299-308.
- Milagro FI, Campion J, Martinez JA. Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14:1118-1123.
- Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, Vinicor F, Marks JS, Koplan JP. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *J Am Med Assoc* 2001; 286:1195-1200.
- Mossin L, Blankson H, Huitfeldt H, Seglen PO. Ploidy-dependent growth and binucleation in cultured rat hepatocytes. *Exp Cell Res* 1994; 214:551-560.
- Murphy HC, Regan G, Bogdarina IG, Clark AJ, Iles RA, Cohen RD, Hitman GA, Berry CL, Coade Z, Petry CJ, Burns SP. Fetal programming of perivenous glucose uptake reveals a regulatory mechanism governing hepatic glucose output during refeeding. *Diabetes* 2003; 52:1326-1332.
- Nandi A, Kitamura Y, Kahn CR, Accili D. Mouse models of insulin resistance. *Physiol Rev* 2004; 84:623-647.
- Natarajan SK, Eapen CE, Pullimood AB, Balasubramanian KA. Oxidative stress in experimental liver microvesicular steatosis: Role of mitochondria and peroxisomes. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21:1240-1249.
- NCEP. Third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) *National institute of health* 2002.
- Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37:1202-1219.
- NIH. Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults: The evidence report. *National Institutes of Health* 1998; Publication N°98-4083.
- Osei K. Insulin resistance and systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1999; 84:33J-36J.
- Osmond C, Barker DJ, Winter PD, Fall CH, Simmonds SJ. Early growth and death from cardiovascular disease in women. *Bmj* 1993; 307:1519-1524.

- Ozanne SE. Programming of hepatic and peripheral tissue insulin sensitivity by maternal protein restriction. *Biochem Soc Trans* 1999; 27:94-97.
- Ozanne SE. Metabolic programming in animals. *Br Med Bull* 2001; 60:143-152.
- Ozanne SE, Hales CN. The long-term consequences of intra-uterine protein malnutrition for glucose metabolism. *Proc Nutr Soc* 1999; 58:615-619.
- Ozanne SE, Hales CN. Early programming of glucose-insulin metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002a; 13:368-373.
- Ozanne SE, Hales CN. Pre- and early postnatal nongenetic determinants of type 2 diabetes. *Expert Rev Mol Med* 2002b; 2002:1-14.
- Ozanne SE, Hales CN. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature* 2004; 427:411-412.
- Ozanne SE, Lewis R, Jennings BJ, Hales CN. Early programming of weight gain in mice prevents the induction of obesity by a highly palatable diet. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106:141-145.
- Ozanne SE, Nicholas Hales C. Poor fetal growth followed by rapid postnatal catch-up growth leads to premature death. *Mech Ageing Dev* 2005; 126:852-854.
- Ozanne SE, Wang CL, Coleman N, Smith GD. Altered muscle insulin sensitivity in the male offspring of protein-malnourished rats. *Am J Physiol* 1996; 271:E1128-1134.
- Petrik J, Reusens B, Arany E, Remacle C, Coelho C, Hoet JJ, Hill DJ. A low protein diet alters the balance of islet cell replication and apoptosis in the fetal and neonatal rat and is associated with a reduced pancreatic expression of insulin-like growth factor-II. *Endocrinology* 1999; 140:4861-4873.
- Petry CJ, Ozanne SE, Wang CL, Hales CN. Early protein restriction and obesity independently induce hypertension in 1-year-old rats. *Clin Sci (Lond)* 1997; 93:147-152.
- Phillips DI, Barker DJ, Hales CN, Hirst S, Osmond C. Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia* 1994; 37:150-154.
- Pires K, Mandarim-de-Lacerda CA. Early renal structure alteration in rat offspring from dams fed low protein diet. *Life Sci* 2006; 79:2128-2134.
- Popkin B. The nutrition transition and obesity in developing world. *J Nutr* 2001; 131:871S-873S.

- Prentice AM. Obesity and its potential mechanistic basis. *Br Med Bull* 2001; 60:51-67.
- Rahmouni K, Mark AL, Haynes WG, Sigmund CD. Adipose depot-specific modulation of angiotensinogen gene expression in diet-induced obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286:E891-895.
- Rasch R, Skriver E, Woods LL. The role of the RAS in programming of adult hypertension. *Acta Physiol Scand* 2004; 181:537-542.
- Rees WD, Hay SM, Cruickshank M, Reusens B, Remacle C, Antipatis C, Grant G. Maternal protein intake in the pregnant rat programs the insulin axis and body composition in the offspring. *Metabolism* 2006; 55:642-649.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993; 123:1939-1951.
- Remacle C, Bieswal F, Reusens B. Programming of obesity and cardiovascular disease. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28 Suppl 3:S46-53.
- Rich-Edwards J, Stampfer M, Manson J, Rosner B, Hankinson S, Colditz G, Willett W, Hennekens C. Birth weight and risk of cardiovascular disease in a cohort of women followed up since 1976. *Br Med J* 1997; 315:396-400.
- Rocchini AP. Obesity hypertension. *Am J Hypertens* 2002; 15:50S-52S.
- Schattenberg J, Galle P, Schuchmann M. Apoptosis in liver disease. *Liver Int* 2006; 26:904-911.
- Scherle W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie* 1970; 26:57-60.
- Shepherd PR, Crowther NJ, Desai M, Hales CN, Ozanne SE. Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. *Br J Nutr* 1997; 78:121-129.
- Simmons R. Developmental origins of adult metabolic disease: concepts and controversies. *Trends Endocrinol Metab* 2005; 16:390-394.
- Srinivasan M, Laychock SG, Hill DJ, Patel MS. Neonatal nutrition: metabolic programming of pancreatic islets and obesity. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228:15-23.
- Staessen JA, Wang J, Bianchi G, Birkenhager WH. Essential hypertension. *Lancet* 2003; 361:1629-1641.

- Steinberg GR, Dyck DJ. Development of leptin resistance in rat soleus muscle in response to high-fat diets. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279:E1374-1382.
- Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc* 1984; 134:127-136.
- Stern MP, Bartley M, Duggirala R, Bradshaw B. Birth weight and the metabolic syndrome: thrifty phenotype or thrifty genotype? *Diabetes Metab Res Rev* 2000; 16:88-93.
- Svegliati-Baroni G, Candelaresi C, Saccomanno S, Ferretti G, Bachetti T, Marzioni M, De Minicis S, Nobili L, Salzano R, Omenetti A, Pacetti D, Sigmund S, Benedetti A, Casini A. A Model of Insulin Resistance and Nonalcoholic Steatohepatitis in Rats: Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Treatment on Liver Injury. *Am J Pathol* 2006; 169:846-860.
- Vega GL. Results of Expert Meetings: Obesity and Cardiovascular Disease. Obesity, the metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Am Heart J* 2001; 142:1108-1116.
- Vehaskari VM, Aviles DH, Manning J. Prenatal programming of adult hypertension in the rat. *Kidney Int* 2001; 59:238-245.
- Vehaskari VM, Woods LL. Prenatal programming of hypertension: lessons from experimental models. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:2545-2556.
- Vickers MH, Breier BH, Cutfield WS, Hofman PL, Gluckman PD. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279:E83-87.
- Vickers MH, Reddy S, Ikenasio BA, Breier BH. Dysregulation of the adipoinular axis -- a mechanism for the pathogenesis of hyperleptinemia and adipogenic diabetes induced by fetal programming. *J Endocrinol* 2001; 170:323-332.
- Wang D, Wei Y, Pagliassotti M. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology* 2006; 147:943-951.
- Weibel E. *Stereological Methods. Practical methods for biological morphometry*. London: Academic Press, 1979: 415 p.
- Welham SJ, Wade A, Woolf AS. Protein restriction in pregnancy is associated with increased apoptosis of mesenchymal cells at the start of rat metanephrogenesis. *Kidney Int* 2002; 61:1231-1242.

- WHO. Cardiovascular disease risk management package, for low-medium resource settings. 2002.
- Woodall SM, Johnston BM, Breier BH, Gluckman PD. Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delayed postnatal growth and elevated blood pressure of offspring. *Pediatr Res* 1996; 40:438-443.
- Woods LL. Fetal origins of adult hypertension: a renal mechanism? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9:419-425.
- Woods LL, Ingelfinger JR, Nyengaard JR, Rasch R. Maternal protein restriction suppresses the newborn renin-angiotensin system and programs adult hypertension in rats. *Pediatr Res* 2001; 49:460-467.
- Woods LL, Ingelfinger JR, Rasch R. Modest maternal protein restriction fails to program adult hypertension in female rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 289:R1131-1136.
- Woods LL, Rasch R. Perinatal ANG II programs adult blood pressure, glomerular number, and renal function in rats. *Am J Physiol* 1998; 275:R1593-1599.
- Woods LL, Weeks DA, Rasch R. Programming of adult blood pressure by maternal protein restriction: role of nephrogenesis. *Kidney Int* 2004; 65:1339-1348.
- Yajnik CS. Obesity epidemic in India: intrauterine origins? *Proc Nutr Soc* 2004; 63:387-396.
- Ye JM, Doyle PJ, Iglesias MA, Watson DG, Cooney GJ, Kraegen EW. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha activation lowers muscle lipids and improves insulin sensitivity in high fat-fed rats: comparison with PPAR-gamma activation. *Diabetes* 2001; 50:411-417.
- Ye JM, Iglesias MA, Watson DG, Ellis B, Wood L, Jensen PB, Sorensen RV, Larsen PJ, Cooney GJ, Wassermann K, Kraegen EW. PPARalpha /gamma ragaglitazar eliminates fatty liver and enhances insulin action in fat-fed rats in the absence of hepatomegaly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284:E531-540.
- Yin FCP, Spurgeon HA, Rakusan K, Weisfeldt ML, Lakatta EG. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the ageing rat. *Am J Physiol* 1982; 243:H941-H947.
- Zambrano E, Martinez-Samayoa PM, Bautista CJ, Deas M, Guillen L, Rodriguez-Gonzalez GL, Guzman C, Larrea F, Nathanielsz PW. Sex differences in transgenerational

alterations of growth and metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *J Physiol* 2005; 566:225-236.

Zimmerman HJ, Ishak KG. Valproate-induced hepatic injury: analyses of 23 fatal cases. *Hepatology* 1982; 2:591-597.

ANEXO

All Databases PubMed Nucleotide Protein Genome Structure OMIM PMC Journals Books
Search PubMed for Go Clear Advanced Search (beta)

Limits Preview/Index History Clipboard Details

Display AbstractPlus Show 20 Sort By Send to

All: 1 Review: 0

1: [Br J Nutr.](#) 2007 Dec;98(6):1159-69. Epub 2007 Jun 11.



Hepatic structural alteration in adult programmed offspring (severe maternal protein restriction) is aggravated by post-weaning high-fat diet.

Souza-Mello V, Mandarim-de-Lacerda CA, Aquila MB.

Laboratory of Morphometry and Cardiovascular Morphology, Biomedical Center, Institute of Biology, State University of Rio de Janeiro, Av. 28 de Setembro 87 (fds), 20551-030 Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

The present study aimed to evaluate the effects of a post-weaning high-fat (HF) diet upon hepatic morphology in rats subjected to perinatal protein restriction. Pregnant Wistar rats were assigned to a normal-protein diet (NP; with 19 % of protein) or a low-protein (LP) diet (with 5 % of protein). At weaning, the following groups were formed: NP and NP-HF, males and females, which were fed standard chow and an HF diet, respectively. Likewise, LP rat dams originated LP and LP-HF offspring, both sexes. Euthanasia was performed at 6 months of age. Three-way ANOVA disclosed a three-factor interaction among sex, perinatal diet and HF diet in relation to body mass, retroperitoneal fat pad, liver mass:tibia length ratio, binucleation rate and hepatocyte area at 6 months old ($P < 0.05$). The high-fat diet intensified the effects of perinatal protein restriction concerning systolic blood pressure, genital fat pad and hepatocyte number ($P < 0.05$; two-way ANOVA). Furthermore, higher steatosis rates and insulin and leptin concentrations were found in males fed on the HF diet, indicating a sex-post-weaning diet interaction ($P < 0.05$; two-way ANOVA). Fetal programming and HF diet as a single stimulus caused mild hypertension at 3 months, an important reduction in hepatocyte number as well as stage 1 steatosis at 6 months. However, hypertension and hepatocyte number deficit were worsened and grade 2 steatosis occurred after exposure to the HF diet. All of these serve to highlight the paramount importance of intra-uterine conditions and postnatal diet quality when it comes to the pathogenesis of chronic diseases.

PMID: 17559700 [PubMed - Indexed for MEDLINE]

Display AbstractPlus Show 20 Sort By Send to

Related Articles

Prenatal exposure to undernutrition and programming of responses to high-fat feeding in the rat. [Br J Nutr. 2007]

Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. [Clin Sci (Lond). 2005]

A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-dependent effects on offspring. [J Physiol. 2006]

Long-term consequences of maternal high-fat feeding on offspring. [Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2007]

Protein restriction during gestation and/or lactation causes adverse transgenerational effects. [Clin Sci (Lond). 2008]

» See all Related Articles..

[Write to the Help Desk](#)

[NCBI](#) | [NLM](#) | [NIH](#)

[Department of Health & Human Services](#)

[Privacy Statement](#) | [Freedom of Information Act](#) | [Disclaimer](#)