



DANYELA ALMEIDA BARRETO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM ÓLEO DE
CHIA SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E DE
ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO EM MODELO ANIMAL
DE HIPERALIMENTAÇÃO NEONATAL**

LAVRAS - MG

2023

DANYELA ALMEIDA BARRETO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM ÓLEO DE CHIA SOBRE
PARÂMETROS METABÓLICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO EM
MODELO ANIMAL DE HIPERALIMENTAÇÃO NEONATAL**

**EFFECT OF MATERNAL SUPPLEMENTATION WITH CHIA OIL ON METABOLIC
PARAMETERS AND HEPATIC OXIDATIVE STRESS IN AN ANIMAL MODEL OF
NEONATAL HYPERALIMENTATION**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, para a obtenção do título de Mestre.

Prof.^a. Dra. Isabela Coelho de Castro
Orientadora

Prof. Dr. Luciano José Pereira
Coorientador

**LAVRAS - MG
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Barreto, Danyela Almeida.

Efeito da suplementação materna com óleo de chia sobre
paramêtros metabólicos e de estresse oxidativo hepático em modelo
animal de hiperalimentação neonatal / Danyela Almeida Barreto. -
2023.

61 p.

Orientador(a): Isabela Coelho de Castro.

Coorientador(a): Luciano José Pereira.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. ácidos graxos omega 3. 2. programação fetal. 3.
hiperalimentação neonatal. I. de Castro, Isabela Coelho. II. Pereira,

DANYELA ALMEIDA BARRETO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM ÓLEO DE CHIA SOBRE
PARÂMETROS METABÓLICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO EM
MODELO ANIMAL DE HIPERALIMENTAÇÃO NEONATAL**

**EFFECT OF MATERNAL SUPPLEMENTATION WITH CHIA OIL ON METABOLIC
PARAMETERS AND HEPATIC OXIDATIVE STRESS IN AN ANIMAL MODEL OF
NEONATAL HYPERALIMENTATION**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 14 de dezembro de 2023

ISABELA COELHO DE CASTRO – UFLA

CHRYSYTIAN ARAUJO PEREIRA – UFLA

ADRIANA AYA YAMAGUCHI - UNIVERSITY OF MICHIGAN

Prof.^a. Dra. Isabela Coelho de Castro

Orientadora

Prof. Dr. Luciano José Pereira

Coorientador

LAVRAS - MG

2023

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por me permitir chegar até aqui e por ser minha fonte de coragem durante todo o tempo. Sempre carreguei em meu coração a frase O Senhor é Meu Pastor e Nada me Faltará e foi por meio D'ele que venci esta etapa.

Agradeço infinitamente a minha família, que foi incentivo e base durante toda trajetória. Meus pais, Nilson e Valdirene, sempre me empurraram para a frente, incentivando a buscar o meu melhor. Minha irmã Ana Luiza pela paciência e pela força nos momentos em que precisei. Agradeço ao meu noivo Rangel, por me apoiar de maneira incondicional, pela ajuda nos finais de semana durante a execução do projeto e principalmente pela paciência.

Agradeço aos meus amigos que estiveram torcendo e rezando por mim, me animando e dando forças nessa trajetória.

Meus sinceros agradecimentos a minha orientadora, professora Isabela, que confiou a mim esse projeto, que acreditou no meu potencial e me ajudou a chegar até aqui. Sempre agregando com seus conhecimentos, experiências, lições, contribuindo não só para o meu crescimento acadêmico, mas também pessoal. Obrigada pela paciência e por acreditar em mim mais do que eu mesma.

Aos professores, Laura, Mary Varaschin, pela disponibilidade e colaboração com o projeto. Aos alunos de Iniciação Científica, Isadora, Giovana e João Gabriel, agradeço a disponibilidade e ajuda durante o processo e, de maneira especial agradeço a Helena que sempre esteve comigo principalmente nos momentos difíceis, sempre muita disposta a ajudar e aprender, a presença de vocês foi de grande importância.

Aos técnicos, Érika e Isaac pela paciência e auxílio no desenvolvimento do projeto, de maneira muito especial agradeço ao Geraldo, sem a sua ajuda, auxílio, conhecimento e bondade eu não teria chegado até aqui, você foi fundamental.

E à Universidade Federal de Lavras, ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, á CAPES e FAPEMIG pela oportunidade de estar e chegar até aqui.

RESUMO

A nutrição materna consumo de ácidos graxos durante os período gestacional e/ou de lactação são determinantes críticos relacionados ao desenvolvimento fetal e pós-natal normais. Por outro lado, alterações na nutrição da prole nos períodos iniciais da vida podem predispor ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos. Nesse sentido, tem se buscado compostos que atuem na prevenção e/ou reversão esses distúrbios. O óleo de chia (OC) se destaca como promissor por possuir elevado conteúdo do ácido α -linolênico (55-66%) e compostos fenólicos. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da suplementação materna com o OC em parâmetros metabólicos em modelo de hiperalimentação neonatal. Realizou-se a extração e caracterização dos óleos utilizados durante o experimento. A suplementação materna com OC (5g/kg p.c.) ou com óleo de milho (OM), como controle negativo na mesma dose, ocorreu durante o acasalamento até o desmame (21 dias) dos filhotes. A formação dos grupos hiperalimentado se deu a partir da redução do tamanho da ninhada para 3-4 filhotes com cada fêmea durante a amamentação. Assim, considerando a suplementação materna e o modelo, os animais foram divididos em seis grupos experimentais: Controle (C), Hiperalimentação pós-natal (H), C suplementado com OC (COC), C suplementado com OM (COM), H suplementado OC (HOC) e H suplementado com OM (HOM). Durante o período experimental, o ganho de peso dos filhotes foi monitorado semanalmente; além disso, aos 120 dias de vida os animais foram submetidos ao teste de tolerância oral à glicose (TTOG) e teste de tolerância a insulina (TSI). Após a eutanásia (aos 120 dias), as amostras foram coletadas para avaliação da glicemia, lipidograma, insulinemia, lipídios totais do fígado, de estresse oxidativo e histologia hepáticos. O nível de significância adotado para os resultados foi de $p < 0,05$. Aos 21 dias o peso corporal total do grupo H foi 26% maior que o grupo C e 29% maior no grupo HOC comparado com COC. Aos 120 dias somente o grupo HOC apresentou diferença em relação ao COC, sendo 14% maior. O percentual de ganho de peso foi 46% menor no grupo HOM comparado ao COM. Já o índice de Lee, HOC foi 10% maior que COC. O peso dos tecidos não apresentou nenhuma diferença significativa. No TTOG, o grupo HOM apresentou média de glicemia maior nos tempos 0 e 120min comparado ao COM. Já no TSI, o grupo HOC apresentou menor glicemia que em relação ao COC no tempo 15min. Glicemia, insulinemia e lipidograma não apresentaram diferença estatística, exceto os triglicerídeos no grupo COC foram maiores em relação ao COM. Os lipídios totais no fígado também não apresentaram diferença. Em relação ao estresse oxidativo, não foi encontrada nenhuma relevância estatística. Nas análises histológicas, todos os grupos apresentaram características comuns para o tecido em questão. O modelo de hiperalimentação, apesar de ser estabelecido na literatura como modelo de excesso peso com alterações metabólicas, não foi completamente estabelecido no presente trabalho. Devido a este fato, porém não limitante ao mesmo, não foi verificado efeitos positivos pela suplementação materna com OC nos parâmetros gerados pelo modelo experimental proposto. Ainda se faz necessários mais estudos para o aperfeiçoamento do modelo de programação metabólica proposto e mais pesquisas são necessárias para elucidar o potencial benefício da suplementação materna com o óleo de chia.

Palavras-chave: ácidos graxos ômega 3; programação fetal; hiperalimentação neonatal.

ABSTRACT

Maternal nutrition and fatty acid consumption during gestational and/or lactation periods are critical determinants strongly related to normal fetal and postnatal development. On the other hand, changes in offspring nutrition in the early stages of life may predispose to the development of metabolic disorders. In this sense, compounds that act in the prevention and/or reversal of these disorders have been sought. Chia oil (OC) stands out as a promising food due to its high content of α -linolenic acid (55-66%) and phenolic compounds. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the effect of maternal OC supplementation on metabolic parameters and hepatic oxidative stress in a neonatal hyperalimentation model. The oils used during the experiment were extracted and characterized. Maternal supplementation with OC (5g/kg bw) or corn oil (OM), as a negative control at the same dose, occurred during mating until weaning (21 days) of the pups. The formation of the hyperfed groups occurred by reducing the litter size to 3-4 puppies with each female during breastfeeding. Thus, considering maternal supplementation and the model, the animals were divided into six experimental groups: Control (C), Postnatal hypernutrition (H), C supplemented with OC (COC), C supplemented with OM (COM), H supplemented OC (HOC) and H supplemented with OM (HOM). During the experimental period, the pups' weight gain was monitored weekly; in addition, at 120 days of life the animals were subjected to the oral glucose tolerance test (OGTT) and the insulin tolerance test (TSI). After euthanasia (at 120 days), samples were collected to evaluate blood glucose, lipid profile, insulinemia, lipid, oxidative stress and liver tissue parameters. The significance level adopted for the results was $p < 0.05$. At 21 days the total body weight of group H was 26% greater than group C and 29% greater in group HOC compared to COC. At 120 days, only the HOC group showed a difference in relation to the COC, being 14% higher. The percentage of weight gain was 46% lower in the HOM group compared to the COM group. As for Lee's index, HOC was 10% higher than COC. The weight of the tissues did not show any significant difference. In the TTOG, the HOM group had a higher mean blood glucose level at times 0 and 120min compared to the COM group. In the TSI, the HOC group had lower blood glucose levels than the COC group at 15 minutes. Glycemia, insulinemia and lipid profile showed no statistical difference, except triglycerides in the COC group were higher compared to the COM group. Total lipids in the liver also showed no difference. Regarding oxidative stress, no statistical relevance was found. In histological analyses, all groups showed common characteristics for the tissue in question. The hyperalimentation model, despite being established in the literature as a model of excess weight and adipose tissue, with metabolic changes, was not completely established in the present work. Due to this fact, but not limiting it, no positive effects were verified by maternal supplementation with OC on the parameters generated by the proposed experimental model. More studies are still needed to improve the proposed metabolic programming model and more research is needed to elucidate the potential benefit of maternal supplementation with chia oil.

Keywords: fatty acids omega 3; fetal programming; neonatal hyperalimentation.

INDICADORES DE IMPACTO

A obesidade é resultante de uma complexa interação entre fatores genéticos e componentes ambientais, como o sedentarismo e os hábitos alimentares inadequados. Pode ser associada à diversas alterações metabólicas e inflamatórias como a resistência à insulina, aterosclerose e diversos tipos de câncer, cursando com prejuízos à qualidade de vida da população e, impactando economicamente o sistema de saúde. Nesse contexto, é de interesse da sociedade e da comunidade científica encontrar alimentos e/ou componentes alimentares que possam prevenir ou ainda reverter os distúrbios metabólicos e inflamatórios decorrentes da obesidade. A programação metabólica se torna cada vez mais interesse de estudo, pois experiências nos períodos iniciais da vida influenciam aspectos fisiológicos e metabólicos na vida adulta. Dessa forma, modelos experimentais que modulem nutricionalmente os períodos de gestação e lactação, como a proposta do trabalho, são importantes para elucidar essas alterações sob uma perspectiva epigenética. O óleo de chia se destaca como a principal fonte vegetal de ácidos graxos ômega-3, além de exibir grande potencial antioxidante. Essas características colocam o óleo de chia como potencial tratamento para as disfunções associadas à obesidade, sendo a melhora do metabolismo glicídico e lipídico já descritas em literatura. Desse modo, o objetivo do presente projeto foi avaliar a influência da suplementação materna com óleo de chia em marcadores metabólicos em modelos de hiperalimentação. Sob um olhar epigenético, a hipótese foi que o óleo de chia fosse capaz de melhorar e/ou prevenir disfunções associadas à programação metabólica desfavorável induzida pelo modelo experimental.

IMPACT INDICATORS

Obesity results from a complex interaction between genetic factors and environmental components, such as a sedentary lifestyle and inadequate eating habits. It can be associated with various metabolic and inflammatory changes such as insulin resistance, atherosclerosis and various types of cancer, causing harm to the population's quality of life and economically impacting the health system. In this context, it is in the interest of society and the scientific community to find foods and/or food components that can prevent or even reverse metabolic and inflammatory disorders resulting from obesity. Metabolic programming is becoming increasingly interesting to study, as experiences in the early stages of life influence physiological and metabolic aspects in adult life. Therefore, experimental models that nutritionally modulate the periods of pregnancy and lactation, such as the proposed work, are important to elucidate these changes from an epigenetic perspective. Chia oil stands out as the main plant source of omega-3 fatty acids, in addition to exhibiting great antioxidant potential.

These characteristics place chia oil as a potential treatment for disorders associated with obesity, with improvements in glucose and lipid metabolism already described in the literature. Therefore, the objective of the present project was to evaluate the influence of maternal supplementation with chia oil on metabolic markers in hyperalimentation models. From an epigenetic perspective, the hypothesis was that chia oil was capable of improving and/or preventing dysfunctions associated with the unfavorable metabolic programming induced by the experimental model.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Desenho Experimental. OC: óleo de chia, OM: óleo de milho, C: controle, COC: controle óleo de chia, COM: controle óleo de milho, H: hiperalimentado, HOC: hiperalimentado óleo de chia, HOM: hiperalimentando óleo de milho, TTOG: teste de tolerância oral a glicose, TSI: teste de sensibilidade a insulina..... 42
- Figura 2 - A) Curva Glicêmica (mg/dL) vs tempo (min) do Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTOG) C) Curva Glicêmica (mg/dL) vs tempo (min) do Teste de Sensibilidade a Insulina (TSI) e B) AUC aos 120 dias de vida dos grupos experimentais do TTOG D) AUC aos 120 dias de vida dos grupos experimentais do TSI. Controle (C), Controle suplementado com óleo de chia (COC), Controle suplementado com óleo de milho (COM), Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com óleo de chia (HOC), Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM). 48
- Figura 3 - Estresse oxidativo hepático. A) Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). B) Concentração da Superóxido dismutase. C) Concentração de hidroperóxidos. D) Atividade da Catalase. Controle (C), Controle suplementado com óleo de chia (COC), Controle suplementado com óleo de milho (COM), Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com óleo de chia (HOC), Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM). 50
- Figura 4 - Análises Histopatológicas por microscopia de luz. A) Grupo Hiperalimentado. B) Grupo Hiperalimentado Óleo de chia. C) Grupo Hiperalimentado Óleo de Milho. D) Grupo Controle. E) Controle Óleo de Chia. F) Controle Óleo de Milho. 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso corporal aos 21 e 120 dias de vida, Ganho de peso (%) e Índice de Lee dos grupos Controle (C), Controle suplementado com óleo de chia (COC), Controle suplementado com óleo de milho (COM), Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com óleo de chia (HOC), Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM).	46
Tabela 2 - Peso do fígado, tecido adiposo (TA) retroperitoneal e epididimal normalizados pelo peso corporal (PC em g) em relação aos grupos Controle (C), Controle suplementado com óleo de chia (COC), Controle suplementado com óleo de milho (COM), Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com óleo de chia (HOC), Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM).	47
Tabela 3 - Glicemia, insulinemia e perfil lipídico em jejum dos grupos experimentais Controle (C), Controle suplementado com óleo de chia (COC), Controle suplementado com óleo de milho (COM), Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com óleo de chia (HOC), Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM).	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALA	Ácido α -linolênico
AUC	Área sob a curva
C	Controle
COC	Controle suplementado com óleo de chia
COM	Controle suplementando com óleo de milho
CAT	Catalase
CEUA	Comitê de ética em experimentação animal
DHA	Ácido docosahexaenóico
dL	Decilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EPA	Ácido eicosapentaenoico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GPx	Glutationaperoxidase
GRd	Glutationa redutase
H	Hiperalimentado
HOC	Hiperalimentado suplementado com óleo de chia
HOM	Hiperalimentado suplementado com óleo de milho
HÁ	Hiperalimentado suplementado com água
IGF- I	<i>Insulin like Growth Factor</i>
l L	Litro
mg/kg	Miligrama por quilo
ml	Mililitro
mmol	Milimol
OC	Óleo de chia
OM	Óleo de milho
PC	Peso corporal
PUFA n-3	Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3
PI3-quinase	Fosfatidilinositol quinase 3
PGC-1 α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator</i>
Rpm	Rotações por minuto
SOD	Superóxido dismutase

LISTA DE ABREVIATURAS (continuação)

TAE	Tecido adiposo epididimal
TAG	Triacilglicerol
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TTOG	Teste de Tolerância Oral à Glicose
TSI	Teste de Sensibilidade à Insulina

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
Δ	Delta
\pm	Desvio padrão
$<$	Menor
μ	Micro
ω	Ômega
®	Registrado

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE.....	16
1	INTRODUÇÃO	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.2	Modelo animal de hiperalimentação.....	20
2.3	Estresse oxidativo e alterações metabólicas	23
2.4	Óleo de Chia.....	25
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
	REFERÊNCIAS	29
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO	36
	ARTIGO 1 - SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM ÓLEO DE CHIA E SEUS EFEITOS SOB PARÂMETROS HEPÁTICOS E METABÓLICOS EM MODELO DE HIPERALIMENTAÇÃO PÓS-NATAL.....	37
	RESUMO	37
1	INTRODUÇÃO	38
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1	Animais.....	39
2.2	Extração dos óleos para caracterização	40
2.3	Suplementação materna com óleo de chia e reajuste das ninhadas	40
2.4	Desenho experimental	40
2.4.1	Eutanásia.....	41
2.5	Teste de tolerância oral a glicose e teste de sensibilidade a insulina	42
2.6	Perfil glicêmico e lipidêmico.....	43
2.7	Concentração sérica de insulina	43
2.8	Conteúdo de lipídios do tecido hepático.....	43
2.9	Estresse oxidativo do tecido hepático	43
2.9.1	Dosagem de peroxidação lipídica.....	44
2.9.2	Dosagem de hidroperóxidos	44
2.9.3	Atividade da enzima catalase	44
2.9.4	Dosagem da atividade da enzima Superóxido Dismutase	44
2.10	Microscopia de luz do tecido hepático.....	45
2.11	Análises estatísticas	45
3	RESULTADOS.....	45
3.1	Análise da composição química dos óleos	45

3.2	Peso corporal e peso dos tecidos	46
3.3	Marcadores Metabólicos	47
3.4	Análise histológica do fígado	50
4	DISCUSSÃO	51
	AGRADECIMENTOS.....	55
	CONFLITO DE INTERESSE	55
	REFERÊNCIAS	55
	ANEXO A – Atestado de aprovação provisório	60

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Alterações nutricionais quando ocorrem em períodos críticos do desenvolvimento, como gestação e lactação, podem gerar alterações fisiológicas e metabólicas a longo prazo ao indivíduo, processo esse denominado programação metabólica. As modificações epigenéticas seriam resultado dessa programação, contribuindo para o desenvolvimento de doenças ligadas ao metabolismo (Godfrey; Costello; Lillycrop, 2016). Epigenética é a ciência que analisa modificações hereditárias na expressão de genes, porém sem alteração na sequência de DNA. Essas mudanças são feitas através de mecanismos epigenéticos, sendo eles: metilação do DNA, modificação de histonas e expressão de micro RNAs. Modificações epigenéticas podem influenciar o metabolismo do indivíduo assim como o da sua prole (Kaushik; Anderson, 2016).

O período crítico do desenvolvimento, que abrange o período gestacional e os primeiros meses de vida, quando alterado pode gerar consequências para a fase infantil e/ou adulta, como algumas doenças crônicas sendo a obesidade, diabetes e dislipidemias alguns exemplos. (Agosti et al., 2017). Na fase gestacional, se o embrião for submetido a um ambiente nutricional adverso, seja por excesso ou falta de nutrientes, pode ocorrer programação metabólica fetal predispondo o indivíduo a obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica, na fase adulta (Zhu; Cao; Li, 2019). Ademais, essas alterações nutricionais precoces podem afetar posteriormente o desenvolvimento imunológico e de processos inflamatórios desses indivíduos (Slopen et al., 2015).

Alguns modelos têm ajudado a elucidar melhor o fenômeno da programação metabólica, como o modelo de hiperalimentação pós-natal. Esse modelo é caracterizado pela redução da competição durante o período de amamentação, o que resulta em aumento do peso corporal, comparadas às ninhadas sem redução, associado a alterações na resposta hormonal-metabólica, (Plagemann, 2008; Habbout et al., 2013). Além disso, o modelo, tem evidenciado que o período de amamentação apresenta impacto potencial na programação do desenvolvimento, contribuindo para hiperleptinemia e hipertensão na fase adulta da prole alimentada com uma dieta normal após o desmame (Taylor; Poston, 2007).

A suplementação com óleos vegetais vêm sendo uma nova proposta para prevenção e tratamento de distúrbios metabólicos, como a obesidade (Oliveira-De-Lira et al., 2018). Dentre eles, um óleo que tem demonstrado grande potencial devido ao seu alto valor nutricional é o óleo de chia, composto por elevado teor de ácido α -linolênico (ω -3), ácido linoleico (ω -6) e antioxidantes (Coelho; Salas-Mellado, 2014). Estudos demonstraram que o óleo de chia pode recuperar a expressão do sistema antioxidante, melhorando a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina e aumentando a expressão de

proteínas de choque térmico nos tecidos de ratos obesos induzidos por dieta (Marineli et al., 2015). Ademais, o consumo de óleo de chia já foi citado promovendo redução no acúmulo de massa gorda e aumento da massa magra, além de beneficiar os níveis de glicose e a sensibilidade à insulina em camundongos obesos (Fonte-Faria et al., 2019).

Desse modo, o objetivo do presente projeto é avaliar o efeito da suplementação materna com o óleo de chia em diferentes parâmetros metabólicos associados ao estresse oxidativo hepático em filhotes submetidos ao modelo de hiperalimentação pós-natal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Programação metabólica

Estudos epidemiológicos revelam que a exposição a um ambiente desfavorável, como excesso ou escassez de alimentos/ nutrientes nos primeiros anos de vida é associada a um risco consideravelmente aumentado para o desenvolvimento de doenças posteriores. Esse fenômeno é denominado programação para o início da vida. O termo “programação” define uma perturbação em períodos críticos de desenvolvimento que causam danos permanentes e alterações ao longo da vida com consequências que podem ser “irreversíveis”, ou seja para a vida toda do indivíduo como por exemplo, alterações no metabolismo de lipídios e glicose e ação da insulina, além do desenvolvimento de doenças crônicas, como a obesidade (Mathias et al., 2014; Persson, Bondke, 2018).

Barker (1995) em seu estudo epidemiológico trouxe pela primeira vez a possibilidade de que os acontecimentos no início da vida em humanos poderiam exercer um papel importante na progressão de doenças crônicas na idade adulta. Neste mesmo trabalho, foi exposto que os recém-nascidos com baixo peso ao nascer, por desnutrição materna durante a gravidez, apresentavam maior predisposição a desenvolver um fenótipo adulto de excesso de peso e distúrbios cardiometabólicos (Barker, 1995).

O ambiente nutricional e hormonal durante os períodos embrionários e fetais desempenha um papel modulador essencial, pois afeta a expressão do genoma. Dentre os mecanismos envolvidos na programação metabólica, destacam-se os mecanismos epigenéticos (Cominetti, Rogero, Horst, 2017), como metilação do DNA, acetilação, metilação, fosforilação, entre outras modificações nas proteínas histonas e expressão de microRNAs, que pode controlar a transcrição e tradução, as quais afetam a expressão gênica durante o desenvolvimento nos primeiros anos de vida e as funções fisiológicas da vida adulta (Cominetti, Rogero, Horst, 2017; Tiffon, 2018).

Sendo a programação metabólica um processo dinâmico cujos efeitos dependem de uma ou mais janelas críticas, a desnutrição materna, obesidade, diabetes durante a gestação e lactação podem contribuir para alteração no acúmulo de tecido adiposo que possa predispor a obesidade e doenças como a síndrome metabólica na prole. (Levin, 2006; Hanley Et Al., 2010; Patel, Srinivasan, 2011; Habbout Et Al., 2012; Persson, Bondke, 2018).

A UNICEF (Fundo das Nações Unidas para a Infância) ressalta a importância dos primeiros mil dias de vida, que vai da concepção até o segundo ano de vida, para o

desenvolvimento nutricional e metabólico do indivíduo nos anos posteriores (UNICEF, 2018), o que pode caracterizar como um momento crítico do desenvolvimento para a programação metabólica.

Estímulos ambientais de natureza física, mental ou nutricional podem interferir na expressão genômica da prole. Sinais epigenéticos possuem grande plasticidade, podendo ser modulados, e até mesmo revertidos, por atuação de diversos fatores, como alimentação, medicamentos, produtos químicos, fatores físicos e psicossociais (Haggarty, 2012; Habbout et al., 2013; Cominetti, Rogero, Horst, 2017).

O estado nutricional materno pode alterar a expressão de genes que colaboram com o desenvolvimento de patologias metabólicas. (Hotamisligil, 2017; Martínez et al., 2012). Estudos experimentais apoiaram a noção de que restrições nutricionais pré-natais podem induzir um fenótipo metabólico alterado na prole, o que constitui um risco aumentado de doenças não transmissíveis, incluindo obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares (Lee, 2015).

Assim, como foi observado no período fetal, o período pós-natal imediato, como a fase da amamentação também se torna uma janela crítica para o desenvolvimento e, portanto, alterações nutricionais, hormonais e metabólicas durante esse período funcionam como períodos independentes para os efeitos de programação metabólica. Estudos demonstraram que camundongos submetidos a hiperalimentação neonatal apresentaram peso acima da média com aumento da adiposidade na idade adulta, como também diminuição da ação da grelina em seu organismo (Colliden et al., 2015; Patel, 2011; Ribeiro et al., 2017). Além disso, outros estudos mostram ocorrer mudanças na metilação de genes, afetando direta ou indiretamente a expressão gênica em vias relacionadas a importantes processos fisiológicos (Vickers, 2014), como regulação do metabolismo da glicose e lipídios.

2.2 Modelo animal de hiperalimentação

Modelos animais, como os roedores, são comumente utilizados em pesquisas experimentais que visam à prevenção e tratamento de doenças (Iglesias-Carres; Neilson, 2021; Pennacchio, 2003). Os camundongos, particularmente, são peças fundamentais nas pesquisas pré-clínicas, possuindo um sistema modelo para investigação da biologia de mamíferos e patologias humanas, por apresentar semelhança genética com humanos, além de fácil manuseio, manipulação e alta taxa de fertilidade. Esses animais possuem gestação relativamente curta e

alto número de ninhada, propiciando estudos da prole ao longo da vida, por exemplo. (Barrios et al., 2009; Dickinson et al., 2016; Waterston et al., 2002)

Estudos são realizados em diferentes espécies, como ovelhas, porcos e primatas não humanos, sendo os principais em ovelhas e roedores. Entretanto, a maior parte dos estudos com animais utiliza modelos de roedores por sua menor gestação e, por possuírem embriologia, anatomia e fisiologia semelhantes ao humano. Dessa forma, é possível monitorar e modificar o ambiente intrauterino de modelos animais, a fim de obter informações sobre as bases moleculares da patogênese da doença metabólica humana (Hanley et al., 2010; Warner, Ozanne, 2010; Seki et al., 2012).

Os camundongos da linhagem BALB/c são animais *inbred*, ou seja, possuem homogeneidade genética. Geralmente, são utilizados em estudos imunológicos e cardiovasculares, e na produção de anticorpos monoclonais a partir de plasmócitos (Saha et al., 2020; Silva-Santana et al., 2020; Yeritsyan et al., 2012). Camundongos BALB/c também são utilizados em pesquisas sobre obesidade, fatores genéticos do diabetes e da resistência à insulina (Li et al., 2020; Nishikawa et al., 2007).

Em roedores as ilhotas pancreáticas e os neurônios continuam o processo de desenvolvimento durante o período pós-natal imediato. Sendo uma janela crítica para o desenvolvimento e, portanto, alterações nutricionais, hormonais e metabólicas durante esse período funciona como pistas independentes para os efeitos de programação metabólica (Patel, 2011; Ribeiro et al., 2017).

A programação do desenvolvimento da saúde e doença em adultos é estudada ao longo de duas décadas mostrando um progresso considerável, mas ainda não há um consenso sobre os nutrientes exatos e os mecanismos envolvidos. Há ainda, a tentativa de conciliar os resultados de estudos epidemiológicos em humanos que relacionam o peso ao nascer aos desfechos de saúde e doença na vida adulta, a estudos de intervenção nutricional em modelos animais (Hanley et al., 2010).

Para pesquisas na área de programação metabólica existem alguns modelos que podem ser utilizados. Um modelo de estudos na área da hiperalimentação durante janelas críticas do desenvolvimento, momento em que se configura importante plasticidade genômica, é o modelo de hiperalimentação pós-natal. Para induzir esse modelo é necessário o ajuste do tamanho da ninhada. As ninhadas são realocadas para ficarem com número menor, 3 a 4 filhotes por mãe; isso diminui a competição pelo leite e, portanto, portando aumentando sua disponibilidade, o que promove maior ingestão de calorias por filhote e a hiperalimentação da prole, possibilitando as pesquisas realizadas nesse campo (Habbout et al., 2013; Ojha et al., 2013; Rodrigues et al.,

2009). Animais como roedores quando criados em pequenas ninhadas apresentam um fenótipo análogo à síndrome metabólica em fases posteriores da vida como, por exemplo, sobrepeso, obesidade, resistência à insulina, hiperinsulinemia e hiperleptinemia (Enes-Marques et al., 2020). Devido a programação nutricional no período neonatal, esses animais parecem desenvolver resistência às ações centrais da adiponectina que podem afetar o peso corporal e ingestão alimentar. Esse hormônio é principalmente produzido pelo tecido adiposo branco e regula o metabolismo de lipídios e glicose (Halah et al., 2018). Soma-se a isso, alterações nas secreções de leptina e grelina durante o período neonatal, e esses hormônios desempenham importante função na formação dos circuitos hipotalâmicos (Habbout et al., 2013; Marangon et al., 2020)

A leptina é o principal modulador do neuropeptídeo Y (NPY), produzido no núcleo arqueado (ARC) e liberado em várias regiões hipotalâmicas, onde desempenha potentes efeitos estimuladores do apetite. Estudos anteriores demonstraram que a injeção central de NPY em roedores pode causar hiperfagia e obesidade acentuadas, e pode reduzir o gasto de energia ao inibir a termogênese do tecido adiposo marrom (Velkoska et al., 2008; Clark et al., 1984; Plagemann et al., 1999; Hansen, Jovanovska, Morris, 2004).

Outro estudo, realizado com ratos Wistar com 180 dias de idade, apontou que a redução do tamanho da ninhada durante o período de amamentação gerou uma prole adulta com massa corporal elevada, resistência à insulina, hipertensão, elevada concentração de triglicérides, ácidos graxos, colesterol total e baixo colesterol HDL (Conceição et al., 2011).

Rodrigues e colaboradores (2011) utilizando modelo de ninhada hiperalimentada na fase pós-natal, demonstrou que os ratos Wistar, na vida adulta, apresentavam hiperfagia, maior massa de gordura total e visceral, menor conteúdo sérico de HDL-colesterol e resistência central à leptina, verificada pela menor expressão de JAK2 (proteína janus quinase 2) e p-STAT3 (proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3) e maior expressão de SOCS3, proteínas de sinalização da leptina no hipotálamo. O aumento da expressão hipotalâmica de SOCS3 (proteína supressora da sinalização de citocinas tipo 3) e diminuição de JAK2 já foram relacionados em outros estudos com a resistência à leptina na obesidade. A via JAK2/STAT3, que é ativada pela ligação da leptina em seu receptor, ativa a expressão de SOCS3, uma proteína que inibe o processo de transdução de sinal da leptina, por impedir a fosforilação de STAT3 (Ramadhinara et al.; Zieba; Biernat; Barć, 2020).

Em outro estudo com modelo de programação nutricional neonatal foi observado que os ratos hiperalimentados mantiveram maior ganho de peso corporal durante todo o processo, aumento de tecido adiposo branco e diminuição plasmática de adiponectina e da responsividade

às ações centrais da adiponectina (Halal *et al.*, 2018). A adiponectina é um hormônio secretado principalmente pelo tecido adiposo na corrente sanguínea e possui papel importante na manutenção da homeostase do corpo todo, apresentando efeitos benéficos como agente antidiabético, anti-aterosclerótico, antiapoptótico e anti-inflamatório em animais e humanos (Fang; Judd, 2018; Idrizaj *et al.*, 2020).

Enes-Marques e colaboradores (2020) demonstraram que ratos Wistar criados em pequenas ninhadas, quando adultos apresentavam redução da ação da colecistocinina (CCK) no esvaziamento gástrico, bem como na resposta de saciedade e redução da termogênese estimulada por norepinefrina e CCK. Estudos têm demonstrado que irregularidades na sinalização pela CCK ou em suas funções gastrointestinais podem contribuir para o desenvolvimento e persistência da obesidade (Bi; Moran, 2002; Enes-Marques *et al.*, 2020; Sayegh, 2013).

Estudos sobre programação metabólica são importantes para elucidar as teorias sobre as consequências fisiológicas da hiperalimentação nos períodos críticos do desenvolvimento e para criação de métodos de prevenção ou tratamento dessas condições (Colombo; Gustafson; Carlson, 2019).

2.3 Estresse oxidativo e alterações metabólicas

O aumento da adiposidade corporal e os distúrbios metabólicos possivelmente induzidos por esta condição estão associados ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio do sistema antioxidante; ou seja, pelo aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs) e redução de defesas antioxidantes, como a diminuição da atividade de enzimas desse sistema (Rupérez; Gil; Aguilera, 2014). As EROs são produzidas naturalmente pelo organismo; entretanto, quando numa desordem metabólica, essas moléculas produzidas de maneira alterada podem causar danos diretos e indiretos em órgãos. Obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e processos aterogênicos são distúrbios onde se encontra aumento do estresse oxidativo (Fernández-Sánchez *et al.*, 2011).

A elevação de ácidos graxos livres (AGL) plasmáticos e um armazenamento exagerado de gordura no tecido adiposo branco são característicos do aumento da adiposidade corporal, que se relacionam com uma série de distúrbios dos sistemas bioquímicos e inflamatórios do organismo. O excesso de peso e suas complicações contribuem para o aumento da produção de EROs, pois podem afetar a atividade de enzimas antioxidantes, como a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD), a glutatona peroxidase (GPx) e a glutatona redutase (GRd), e

interferir também em antioxidantes não enzimáticos como minerais, vitaminas e polifenóis (Manna; Jain, 2015; Marineli *et al.*, 2015).

O estresse oxidativo ligado ao aumento da adiposidade corporal está relacionado ao aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, e concomitantemente essas citocinas podem provocar o desequilíbrio do sistema antioxidante, formando um ciclo prejudicial ao organismo (Bhatti; Bhatti; Reddy, 2017; Dlundla *et al.*, 2019). Além disso, o estresse oxidativo também está relacionado a uma síntese irregular de adipocinas (Fernández-Sánchez *et al.*, 2011).

Animais criados em pequenas ninhadas apresentam estresse oxidativo no tecido cardíaco e hepático, evidenciado pelo aumento dos hidroperóxidos circulantes, diminuição dos níveis plasmáticos de vitamina C, diminuição da atividade de várias enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), além de, aumento no plasma e no fígado dos níveis de malondialdeído e nitratos. Essas alterações podem predispor lesões nos hepatócitos e podem levar ao desenvolvimento de resistência à insulina (Habbout *et al.*, 2012; Conceição *et al.*, 2013; Junior *et al.*, 2019).

Em pacientes que possuem diabetes mellitus do tipo 2, doença relacionada à produção falha ou resistência insulínica, ocorre um aumento na produção de EROs e menor atividade antioxidante. Uma disfunção mitocondrial combinada com a desregulação das enzimas antioxidantes são fatores cruciais para a geração crônica de EROs, o que pode contribuir para resistência à insulina (Poblete-Aro *et al.*, 2018).

A resistência à insulina é um evento que consiste no desequilíbrio do metabolismo da glicose, ocasionando um aumento da produção de insulina, alteração na expressão de receptores gerando falha no mecanismo de trânsito celular ou defeito em alguns mecanismos pós-receptores durante sua utilização. De forma geral, a resistência à insulina pode ser causada por anormalidade no pré-receptor, receptor ou pós-receptor. Sabe-se que a insulina exerce suas funções conjuntamente com o *Insulin like Growth Factor 1* (IGF-I) por via enzimática comum, o sistema fosfatidilinositol quinase 3 (PI3-quinase). Os hormônios se ligam aos receptores celulares em seguida, ocorre a autofosforilação da subunidade, que determina a ativação de algumas enzimas e a inativação de outras (Mcfarlane, 2001).

Ensaio clínico e experimentais forneceram evidências que a resistência à insulina em tecidos metabólicos, como tecido adiposo, hepático e muscular constituem um traço característico da disfunção metabólica principalmente induzida pela obesidade. Esta resistência periférica à insulina faz com que as células β pancreáticas secretem mais insulina, em um processo conhecido como hiperinsulinemia compensatória. No entanto, junto com a resistência

à insulina, muitas vezes há depleção de células β , o que resulta em hiperglicemia sustentada e DM2 (Gutiérrez et al., 2017).

Pesquisas com substâncias naturais estão sendo feitas a fim de encontrar formas de amenizar, prevenir e tratar doenças metabólicas. Dentre esses estudos, são vistos que os ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-3 (AGPI n- 3) apresentam efeitos benéficos em distúrbios metabólicos e cardiovasculares, pois detêm propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Yang et al., 2019).

Pesquisas prévias evidenciaram que a suplementação com AGPI n-3 também apresenta efeitos benéficos durante a gestação, com redução do risco de parto prematuro, aumento do crescimento fetal e redução do risco de complicações na gravidez. Os AGPI de cadeia longa são transportados pela placenta para o feto, esse transporte é feito de maneira direcional, preferencial e oportuna. Existe uma produção naturalmente alta de EROs placentária, em razão da alta atividade metabólica intrínseca das células placentárias; dessa forma, todos os principais sistemas antioxidantes estão presentes e ativos no ambiente. Estudos observaram que a suplementação materna com AGPI n-3 aumentou a expressão do mRNA e a atividade das principais enzimas antioxidantes, SOD e CAT, na zona do labirinto placentária durante o terço final da gestação de ratos (Jones; Mark; Waddell, 2013, 2014; Perkins, 2006).

Sley e colaboradores (2020) em seu artigo de revisão demonstraram que gestantes suplementadas com AGPI no terceiro semestre apresentaram concentrações mais baixas de 8-iso-PGF 2α e seu metabólito. 8-iso-PGF 2α é um produto da peroxidação lipídica e um excelente marcador de estresse oxidativo in vivo, esse biomarcador é estável durante a gravidez e facilmente detectável na urina. Esse resultado sugeriu uma diminuição do estresse oxidativo materno durante a gravidez após a suplementação.

2.4 Óleo de Chia

A chia (*Salvia Hispanica* L.) é uma planta nativa do sul do México e norte da Guatemala, e sua semente é descrita como fonte de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), fibra alimentar, minerais, compostos fenólicos e um teor de proteínas superior a outros grãos (cerca de 19%) sendo, portanto, uma promissora fonte de peptídeos bioativos (Marineli et. al., 2015; Silva et al., 2017; Grancieri, Martino, De Mejia, 2019).

O óleo de chia destaca-se como a principal fonte vegetal de ácidos graxos ômega-3 (ω -3), apresentando 68% da sua composição de ácido α -linolênico (C18:3, ALA), além de exibir

conteúdo de tocoferóis, fitoesteróis, carotenoides e compostos fenólicos, tais como, ácido clorogênico, ácido cafeico, miricetina, quercetina e kaempferol, e compostos lipolíticos, agregando grande potencial antioxidante que podem favorecer, conjuntamente, a homeostase metabólica (Reyes-Caudillo et al., 2008; Ixtaina et al., 2011; Martínez-Cruz, Paredes-López, 2014; Marineli et. al., 2015).

O ALA é precursor do ácido eicosapentaenóico (EPA) e do ácido docosahexaenóico (DHA) no organismo, evidências tem mostrado que a suplementação de óleo rico em ALA aumenta as concentrações de DHA em vários tecidos de roedores, apesar disso, o ALA produz respostas fisiológicas diferentes do EPA e DHA, particularmente na adiposidade e no manejo da glicose. A maior parte dos efeitos do ALA é por meio da modulação das lipoproteínas, enquanto o EPA e DHA podem reduzir a síntese de triglicerídeos e reduzir a adiposidade (Poudyal et al., 2013).

Alguns estudos observaram que o ALA proveniente do óleo de chia pode modificar o perfil antioxidante hepático, visto através do aumento do conteúdo de tiol reduzido, maior razão GSH/GSSG e redução do conteúdo de MDA (malondialdeído). Além disto, foi demonstrado que o ALA resulta em maior atividade de enzimas antioxidantes, como SOD, GPx e que o óleo de semente de chia é melhor do que a semente para restaurar o sistema antioxidante, vistos em ratos com obesidade induzida pela dieta (Marineli et al., 2015; Rincón-Cervera et al., 2016; Parker et al., 2018).

O ácido graxo essencial ALA, assim como seus metabólitos EPA e DHA são AGPI ω -3 normalmente utilizados como suplementos durante a gravidez. Alguns benefícios descritos desses ácidos graxos são: regulação da função metabólica materna e fetal, redução da inflamação, aumento da imunidade e diminuição da macrosomia, do estresse oxidativo, da pré-eclâmpsia e do parto prematuro, melhor crescimento intrauterino e neurodesenvolvimento (Elshani; Kotori; Daci, 2021).

Os AGPI ω -3 têm sido associados com a melhora do perfil lipídico, atenuação do risco cardiometabólico e diminuição da inflamação (Lesna et al., 2013). A alta concentração de ω -3 está associada à redução do risco de doença arterial coronariana, hipertensão, diabetes tipo 2, artrite reumatoide, desordens autoimunes e de câncer (Connor, 2000).

Os AGPI ω -3 parecem regular positivamente duas enzimas envolvidas na hidrólise de triglicerídeos, lipase lipoproteica e lipase de triacilglicerol, que produzem efeitos hipotriacilglicerolêmicos e lipolíticos nos adipócitos, através de ligação aos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma α e γ (PPAR). Embora existam muitos dados sobre os

mecanismos de atuação dos ácidos graxos n-3 na redução da adiposidade e dislipidemia, os mecanismos de atuação do ALA são pouco compreendidos (Poudyal et al., 2012, 2013).

Muitas investigações têm mostrado que o consumo de fontes dietéticas naturais (frutas, nozes, vegetais) com compostos bioativos antioxidantes (polifenóis, tocoferóis, carotenoides, vitaminas) podem auxiliar na prevenção do estresse oxidativo e pode ser uma alternativa natural para prevenção e controle de doenças crônicas (Avignon et al., 2012; Bullo, Lamuela-Raventos; Salas-Salvado, 2011; Landete, 2012).

Na gestação, a única fonte de AGPI para o feto em desenvolvimento é a mãe por meio da placenta. A ingestão alimentar de ácidos graxos durante a gestação e sua subsequente transferência da mãe para o feto são cruciais para o crescimento e desenvolvimento fetal. Acredita-se que o transporte dos ácidos graxos maternos para o feto ocorra por meio de algumas proteínas transmembranas: proteína de transporte de ácidos graxos (FATPs), translocase de ácidos graxos (FAT/CD36) e proteínas de ligação intracelular de ácidos graxos (FABPs). Após os ácidos graxos estarem dentro da célula que envolve o feto, se translocam para o núcleo e alteram a expressão gênica, podem também ser armazenados ou se deslocam para a mitocôndria para modular a função mitocondrial (Jones, Mark, Waddell, 2014; Lewis, Desoye, 2017; Shrestha et al., 2020).

Existem poucos estudos que avaliam a suplementação materna de ômega 3 durante a gestação e lactação sobre os efeitos no metabolismo glicídico e lipídico e do estresse oxidativo hepático, que é um fator crucial para o desenvolvimento da prole, sendo um aspecto que carece de elucidação (Kajarabille et al., 2017).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabe-se que alterações nutricionais em períodos críticos do desenvolvimento, como na gestação ou nos primeiros meses após o nascimento, em humanos e animais, podem influenciar no perfil metabólico e imunológico do indivíduo na infância e/ou vida adulta. Isso se dá pela alta plasticidade genômica, podendo ocorrer modificações na expressão estável de genes da próxima geração por meio de alterações epigenéticas. Sendo assim a importância da nutrição materna e do neonato requer atenção e cuidados.

Em vista dos fatos apresentados, realçados pela alta prevalência de DCNT (doença crônica não transmissível) em nível mundial, obesidade, dislipidemias, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e cânceres, a busca por estratégias que possam contribuir para uma melhor nutrição materna e fetal são de significativa importância. Nosso trabalho avaliou os benefícios da suplementação materna com um óleo de origem vegetal em uma prole hiperalimentada na fase pós-natal.

Poucos são os trabalhos encontrados que associam a atuação da suplementação materna com uma fonte vegetal de ômega 3 sobre parâmetros metabólicos em proles hiperalimentadas durante o pós-natal, o que torna a proposta deste estudo altamente relevante.

REFERÊNCIAS

- AGOSTI, M. *et al.* Nutritional and metabolic programming during the first Thousand days of life. **La Pediatria Medica e Chirurgica**, v. 39, n.2, 2017.
- AVIGNON, A. *et al.* Dietary antioxidants: Do they have a role to play in the ongoing fight against abnormal glucose metabolism? **Nutrition**, v. 28, n. 7, p. 715–721, 2012.
- BHATTI, JASVINDER SINGH; BHATTI, GURJIT KAUR; REDDY, P. Hemachandra. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A Step towards mitochondria based therapeutic strategies. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1863, n. 5, p. 1066, 2017.
- BARRIOS, Mariana *et al.* Comparative hemostatic parameters in BALB/c, C57BL/6 and C3H/He mice. **Thrombosis Research**, v. 124, n. 3, p. 338–343, 2009.
- BARKER, D. J. P. The fetal origins of coronary heart disease. **Acta Paediatrica**, v. 86, n. S422, p. 78-82, 1997.
- BARKER, D. J. Fetal origins of coronary heart disease. **British Medicine Journal (Clinical Research ed.)**, v. 311, n. 6998, p. 171, 1995.
- BELLENGER, J. *et al.* N-3 polyunsaturated fatty acids: An innovative strategy against obesity and related metabolic disorders, intestinal alteration and gutmicrobiota dysbiosis. **Biochimie**, v. 159, p. 66-71, 2019.
- BI, S.; MORAN, T. H. Actions of CCK in the controls of food intake and body weight: Lessons from the CCK-A receptor deficient OLETF rat. **Neuropeptides**, v. 36, n. 2–3, p. 171–181, 2002.
- BULLÓ, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; SALAS-SALVADÓ, J. Mediterranean Diet and Oxidation : Nuts and Olive Oil as Important Sources of Fat and Antioxidants. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 14, p. 1797–1810, 2011
- CLARK, J. T. *et al.* Neuropeptide y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. **Endocrinology**, v. 115, n. 1, p. 427–429, 1 jul. 1984.
- COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. L. M.. Revisão: Composição química, propriedades funcionais e aplicações tecnológicas da semente de chia (*Salvia hispanica* L) em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 259–268, 2014.
- COLOMBO, J.; GUSTAFSON, K. M.; CARLSON, S. E. Critical and Sensitive Periods in Development and Nutrition. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 75, n. 1, p. 34–42, 2019.
- COMINETTI, C., ROGERO, M. M., HORST, M. A. **Genômica Nutricional: Dos Fundamentos à Nutrição Molecular**. Barueri, SP: Manole, p. 552, 2017.
- CONCEIÇÃO, E. P. S. *et al.* Higher white adipocyte area and lower leptin production in adult

rats overfed during lactation. **Hormone and Metabolic Research**, v. 43, n. 07, p. 513-516, 2011.

CONCEIÇÃO, ELLEN P. S. *et al.* Oxidative stress programming in a rat model of postnatal early overnutrition — role of insulin resistance. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 81–87, 2013.

CONNOR, W. E. Importance of n– 3 fatty acids in health and disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 1, p. 171S-175S, 2000.

DA SILVA, B. P. *et al.* Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1709–1716, 2017.

DICKINSON, H. *et al.* A review of fundamental principles for animal models of DOHaD research: an Australian perspective. **Journal of developmental origins of health and disease**, v. 7, n. 5, p. 449–472, 2016.

DLUDLA, P. V. *et al.* Inflammation and oxidative stress in an obese state and the protective effects of gallic acid. **Nutrients**, v. 11, n.1, 2019.

DRESCHER, H. K. *et al.* The Influence of Different Fat Sources on Steatohepatitis and Fibrosis Development in the Western Diet Mouse Model of Non-alcoholic Steatohepatitis (NASH). **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 1–17, 2019.

ELSHANI, B.; KOTORI, V.; DACI, A.. Role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in gestational diabetes, maternal and fetal insights: current use and future directions. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 34, n. 1, p. 124–136, 2021.

ENES-MARQUES, S. *et al.* Neonatal overnutrition programming impairs cholecystokinin effects in adult male rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 86, p. 108494, 2020.

FANG, HAN; JUDD, ROBERT L. Adiponectin Regulation and Function. **Comprehensive Physiology**, v. 8, n. 3, p. 1031–1063, 2018.

FONTE-FARIA, T. *et al.* Chia oil supplementation changes body composition and activates insulin signaling cascade in skeletal muscle tissue of obese animals. **Nutrition**, v. 58, p. 167–174, 2019.

GODFREY, K. M. *et al.* Development, Epigenetics and Metabolic Programming. **Nestle Nutritional Institute Workshop Series**, v 85, p. 71-80, 2016.

GRANCIERI, M., MARTINO, H. S. D., DE MEJIA, E. G. Digested total protein and protein fractions from chia seed (*Salvia hispanica* L.) had high scavenging capacity and inhibited 5-LOX, COX-1-2, and iNOS enzymes. **Food Chemistry**, v. 289, p. 204-214, 2019.

GUTIÉRREZ-RODELO, C.; ROURA-GUIBERNA, A.; OLIVARES-REYES, J. A. Molecular Mechanisms of Insulin Resistance: An Update. **Gaceta Médica de México**, v. 153, p.214–228, 2017

HABBOU, A. *et al.* Postnatal overfeeding in rats leads to moderate overweight and to cardiometabolic and oxidative alterations in adulthood. **Biochimie**, v. 94, n. 1, p. 117-124, 2012.

HABBOU, A. *et al.* Postnatal overfeeding in rodents by litter size reduction induces major short-and long-term pathophysiological consequences. **The Journal of Nutrition**, v. 143, n. 5, p. 553-562, 2013.

HAGGARTY, P. Nutrition and the epigenome. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 108, p. 427-446, 2012.

HALAH, MARIANA PEDUTI *et al.* Neonatal nutritional programming impairs adiponectin effects on energy homeostasis in adult life of male rats. *American journal of physiology. Endocrinology and Metabolism*, v. 315, n. 1, p. E29–E37, 2018.

HANLEY, B. *et al.* A review of metabolic programming, imprinting and epigenetics. **British Journal of Nutrition**, v. 104, p. S1-25, 2010.

HANSEN, M. J.; JOVANOVSKA, V.; MORRIS, M. J. Adaptive responses in hypothalamic neuropeptide Y in the face of prolonged high-fat feeding in the rat. **Journal of Neurochemistry**, v. 88, n. 4, p. 909–916, 1 fev. 2004.

HOTAMISLIGIL, G. S. Foundations of Immunometabolism and Implications for Metabolic Health and Disease. **Immunity**, v. 47, n. 3, p. 406-420, 2017.

IDRIZAJ, EGLNTINA *et al.* Can adiponectin have an additional effect on the regulation of food intake by inducing gastric motor changes? **World Journal of Gastroenterology**, v. 26, n. 20, p. 2472–2478, 2020.

IGLESIAS-CARRES, Lisard; NEILSON, Andrew P. Utilizing preclinical models of 26 genetic diversity to improve translation of phytochemical activities from rodents to humans and inform personalized nutrition. **Food & function**, v. 12, n. 22, p. 11077–11105, 2021.

IXTAINA, V. Y. *et al.* Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166-174, 2011.

JONES, M. L.; MARK, P. J.; WADDELL, B. J. Maternal dietary omega-3 fatty acids and placental function. **Reproduction**, v. 147, n. 5, p. R143-R152, 2014.

JONES, M. L.; MARK, PIJ.; WADDELL, B. J. Maternal omega-3 fatty acid intake increases placental labyrinthine antioxidant capacity but does not protect against fetal growth restriction induced by placental ischaemia–reperfusion injury. **Reproduction**, v. 146, n. 6, p. 539–547, 2013.

JUNIOR, M. D. F. *et al.* Postnatal early overfeeding induces cardiovascular dysfunction by oxidative stress in adult male Wistar rats. **Life Sciences**, v. 226, p. 173-184, 2019.

KAJARABILLE, N. *et al.* Omega-3 LCPUFA supplement: a nutritional strategy to prevent maternal and neonatal oxidative stress. **Maternal and Child Nutrition**, v. 13, n. 2, p. 1–12, 2017.

KAUSHIK, P.; ANDERSON, J. T. Obesity: Epigenetic aspects. **Biomolecular Concepts**, v. 7, n. 3, p. 145-155, 2016.

LANDETE, J. M. Updated Knowledge about Polyphenols: Functions, Bioavailability, Metabolism, and Health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 10, p. 936–948, 2012.

LEE, H. Impact of maternal diet on the epigenome during in utero life and the developmental programming of diseases in childhood and adulthood. **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 9492-9507, 2015.

LESNA, I. K. *et al.* Effect of different types of dietary fatty acids on subclinical inflammation in humans. **Physiological Research**, v. 62, n. 2, p. 145, 2013.

LEVIN, B. E. Metabolic imprinting: critical impact of the perinatal environment on the regulation of energy homeostasis. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 361, n. 1471, p. 1107-1121, 2006.

LEWIS, R. M.; DESOYE, G. Placental Lipid and Fatty Acid Transfer in Maternal Overnutrition. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 70, n. 3, p. 228–231, 2017.

LI, J. *et al.* High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR. **Experimental Animals**, v. 69, n. 3, p. 326–335, 2020.

MARANGON, P. B. *et al.* Perinatal over- and underfeeding affect hypothalamic leptin and ghrelin neuroendocrine responses in adult rats. **Physiology & Behavior**, v. 215, p. 112793, 2020.

MARINELI, R. S. *et al.* Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica* L.) in diet-induced obese rats. **Food Research International**, v. 76, p. 666-674, 2015.

MARTÍNEZ-CRUZ, O., PAREDES-LÓPEZ, O. Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra-high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1346, p. 43-48, 2014.

MARTÍNEZ, J. A. *et al.* Opening Lecture: Interplay of early-life nutritional programming on obesity, inflammation and epigenetic outcomes. **Proceedings of The Nutrition Society**, p. 276–283, 2012.

MATHIAS, P. C. F. *et al.* Maternal diet, bioactive molecules, and exercising as reprogramming tools of metabolic programming. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 3, p. 711-722, 2014.

MCFARLANE, S.I.; BANERJI, M.; SOWERS, J. R. Insulin resistance and cardiovascular disease. **Journal of Clinic Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 2, p. 713-718, 2001.

NISHIKAWA, S. *et al.* Involvement of sex, strain and age factors in high fat diet induced obesity in C57BL/6J and BALB/cA mice. **Experimental Animals**, v. 56, n. 4, p. 263–272, 2007.

OLIVEIRA-DE-LIRA, L. *et al.* Supplementation-dependent effects of vegetable oils with varying fatty acid compositions on anthropometric and biochemical parameters in obese women. **Nutrients**, v. 10, n. 7, 2018.

OJHA, S. *et al.* Excess nutrient supply in early life and its later metabolic consequences. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 40, n.11, p. 817–823, 2013.

PARKER, J. *et al.* Therapeutic Perspectives on Chia Seed and Its Oil: A Review. **Planta Medica**, v. 84, n. 09/10, p. 606–612, 2018.

PENNACCHIO, Len A. Insights from human/mouse genome comparisons. Mammalian genome : **Official Journal Of The International Mammalian Genome Society**, v. 14, n. 7, p. 429–436, 2003.

PERKINS, A. V. Endogenous anti-oxidants in pregnancy and preeclampsia. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 46, n. 2, p. 77–83, 2006.

PERSSON, P. B.; BONDKE PERSSON, A. Metabolism, obesity and the metabolic syndrome. **Acta Physiologica**, v. 223, n. 3, p. e13096, 2018.

PLAGEMANN, A. A matter of insulin: developmental programming of body weight regulation. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 143–148, 2008.

PLAGEMANN, A. *et al.* Observations on the orexigenic hypothalamic neuropeptide Y system in neonatally overfed weanling rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 11, n. 7, p. 541–546, 1999

POBLETE-ARO, C. *et al.* Exercise and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. **Revista Médica de Chile**. v. 146, n. 3, p. 362–372, 2018

POUDYAL, H. *et al.* Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 23, n. 2, p. 153–162, 2012.

POUDYAL, H. *et al.* Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 6, p. 1041–1052, 2013.

RAMADHINARA, Adisaputra *et al.* The Role of SOCS-3 in Leptin Resistance and Obesity. [S. l.], [s. d.]

REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE, A., VALDIVIA-LÓPEZ, M. A. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 656–663, 2008.

RIBEIRO, T. A. *et al.* Maternal low intensity physical exercise prevents obesity in offspring rats exposed to early overnutrition. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.

- RINCÓN-CERVERA, M. Á. *et al.* Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 111, p. 25-35, 2016.
- RODRIGUES, A. L. *et al.* Postnatal early overnutrition changes the leptin signalling pathway in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis of young and adult rats. **Journal of Physiology**, v. 587, n. 11, p. 2647–2661, 2009.
- RODRIGUEZ, E. S. *et al.* Effect of natural antioxidants on the physicochemical properties and stability of freeze-dried microencapsulated chia seed oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 4, p. 1682–1690, 2019.
- RUPÉREZ, A. I.; GIL, A.; AGUILERA, C. M. Genetics of oxidative stress in obesity. **International Journal of Molecular Science**, v. 15, n.2, p. 3118-3144, 2014.
- SAYEGH, A. I. The Role of Cholecystokinin Receptors in the Short-Term Control of Food Intake. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 114, p. 277–316, 2013.
- SAHA, P. *et al.* Distinct iron homeostasis in C57BL/6 and Balb/c mouse strains. **Physiological Reports**, v. 8, n. 9, 2020
- SEKI, Y., WILLIAMS, L., VUGUIN, P. M., *et al.* Minireview : Epigenetic Programming of Diabetes and Obesity: animal models. **Endocrinology**, v. 153, n. 3, p. 1031-1038, 2012.
- SHRESTHA, N. *et al.* Role of omega-6 and omega-3 fatty acids in fetal programming. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 47, n. 5, p. 907-915, 2020.
- SILVA-SANTANA, G. *et al.* Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6 and B6D2F1 Mus musculus. **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 3, n. 4, p. 304–315, 2020.
- SLOPEN, N. *et al.* Early origins of inflammation: An examination of prenatal and childhood social adversity in a prospective cohort study. **Psychoneuroendocrinology**, v. 51, p. 403–413, 2015.
- SILVA, B. P. *et al.* Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1709-1716, 2017.
- TARRY-ADKINS, J. L.; OZANNE, S. E. Mechanisms of early life programming: current knowledge and future directions. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 6 (Supplementar), p. 1765S-1771S, 2011.
- TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Developmental programming of obesity in mammals. **Experimental Physiology**, v. 92, n. 2, p. 287–298, 2007.
- TIFFON, C. The impact of nutrition and environmental epigenetics on human health and disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 3425, 2018.

VELKOSKA, E. et al. Early Undernutrition Leads to Long-Lasting Reductions in Body Weight and Adiposity Whereas Increased Intake Increases Cardiac Fibrosis in Male Rats. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 9, p. 1622–1627, 1 set. 2008.

VICKERS, M. H. Early life nutrition, epigenetics and programming of later life disease. **Nutrients**, v.6, n. 6, p. 2165-2178, 2014.

WARNER, M. J., OZANNE, S. E. Mechanisms involved in the developmental programming of adulthood disease. **Biochemical Journal**, v. 427, n. 3, p. 333–347, 2010.

WATERSTON, Robert H. et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. **Nature**, v. 420, n. 6915, p. 520–562, 2002.

YANG, J. *et al.* Oxidative Stress and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation. **Nutrients**, v. 11, n. 4, p. 872, 2019.

YERITSYAN, N.*et al.* Visual capabilities and cortical maps in BALB/c mice. **The European Journal of Neuroscience**. v. 36, n. 6, p. 2801–2811, 2012.

ZHANG, Y. Y. *et al.* Efficacy of omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in managing overweight and obesity: A meta-analysis of randomized clinical trials. **Journal of Nutrition, Health and Aging**, v. 21, n. 2, p. 187–192, 2017.

ZHU, Z.; CAO, F.; LI, X. Epigenetic Programming and Fetal Metabolic Programming. **Frontiers of Endocrinology**, v. 10, 2019.

ZIEBA, D. A.; BIERNAT, W.; BARĆ, J. Roles of leptin and resistin in metabolism, reproduction, and leptin resistance. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 73, 2020.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

O estudo é uma versão preliminar e será submetido à Revista Nutrition Research ISSN: 0271-5317, sendo apresentado de acordo com as normas de publicação da ABNT e reformulado mediante as considerações da banca e normas da revista.

1 **ARTIGO - SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM ÓLEO DE CHIA E SEUS**
2 **EFEITOS SOB PARÂMETROS HEPÁTICOS E METABÓLICOS EM MODELO DE**
3 **HIPERALIMENTAÇÃO PÓS-NATAL**

4
5 Danyela Almeida Barreto¹; Helena Costa Monteiro¹; Geraldo de Sousa Cândido¹; Laura
6 Cristina Jardim Pôrto Pimenta¹; Isabela Coelho de Castro^{1*}

7
8 ¹ *Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil.*

9
10 *Autor correspondente:

11 Dra. Isabela Coelho de Castro

12 Departamento de Nutrição

13 Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

14 Número de telefone: +55(35) 38294544

15 E-mail: isabela.castro@ufla.br
16

17 **RESUMO**

18 A nutrição materna, durante a gestação e a nutrição do neonato, detém uma influência
19 importante no metabolismo do indivíduo à longo prazo. A suplementação materna com ômega-
20 3 tem se demonstrado eficaz na prevenção e tratamento de patologias. Numa proposta de
21 programação metabólica esse trabalho investigou o efeito da suplementação materna com óleo
22 de chia na possível atenuação de desordens metabólicas e hepáticas induzidas na prole por
23 hiperalimentação pós-natal, em camundongos machos Balb/c. Realizou-se a extração e
24 caracterização dos óleos utilizados durante o experimento. A suplementação materna com OC
25 (5g/kg p.c.) ou com óleo de milho (OM), como controle negativo na mesma dose, ocorreu
26 durante o acasalamento até o desmame (21 dias) dos filhotes. A formação dos grupos
27 hiperalimentado se deu a partir da redução do tamanho da ninhada para 3-4 filhotes com cada
28 fêmea durante a amamentação. Aos 21 dias o peso corporal total do grupo H foi 26% maior que
29 o grupo C e 29% maior no grupo HOC comparado com COC. Aos 120 dias somente o grupo
30 HOC apresentou diferença em relação ao COC. O percentual de ganho de peso foi 46% menor
31 no grupo HOM comparado ao COM. Já o índice de Lee, HOC foi 10% maior que COC. O peso
32 dos tecidos não apresentou nenhuma diferença significativa. No TTOG, o grupo HOM
33 apresentou média de glicemia maior nos tempos 0 e 120min comparado ao COM. Já no TSI, o
34 grupo HOC apresentou menor glicemia que em relação ao COC no tempo 15min. Glicemia,
35 insulinemia e lipidograma não apresentaram relevância estatística, somente os triglicérides no
36 grupo COC foram maiores em relação ao COM. Os lipídios totais no fígado também não
37 apresentaram diferença. Em relação ao estresse oxidativo, não foi encontrada nenhuma
38 relevância estatística. Nas análises histológicas, todos os grupos apresentaram características
39 comuns para o tecido em questão. O modelo de hiperalimentação, apesar de ser estabelecido na
40 literatura como modelo de excesso peso e de tecido adiposo, com alterações metabólicas, não
41 foi completamente estabelecido no presente trabalho. Devido a este fato, porém não limitante
42 ao mesmo, não foi verificado efeitos positivos pela suplementação materna com OC nos
43 parâmetros gerados pelo modelo experimental proposto. Mais pesquisas são necessárias para
44 elucidar o potencial benefício da suplementação materna com o óleo de chia.

45
46 **Palavras-chave:** Programação metabólica. Redução de ninhada. Ômega-3.

47 1 INTRODUÇÃO

48 Durante os períodos iniciais de vida ocorre o desenvolvimento neurológico e
49 imunológico, portanto, alterações nutricionais maternas como a desnutrição e obesidade,
50 associados à ingestão alimentar e exposição ambiental dos filhotes durante o período de
51 lactação, podem influenciar esse desenvolvimento da prole. Sendo assim, esse fenômeno é
52 denominado programação metabólica e vem sendo cada vez mais estudado (Hanley et al, 2010;
53 Levin, 2006), pois experiências nos primeiros períodos de vida são significativas e cruciais para
54 a fase adulta (ZHAO, 2020).

55 Alterações epigenéticas são modificações hereditárias que ocorrem no DNA, sem
56 alteração em sua sequência, mas que afetam a expressão de genes alterando o fenótipo
57 (Rodriguez; Sanches, 2019). Sendo assim, as modificações epigenéticas podem ser resultado
58 da programação metabólica, contribuindo para o desenvolvimento de doenças ligadas ao
59 metabolismo como resistência à insulina, hiperlipemia e obesidade (Godfrey et al., 2016).

60 Modelos experimentais vêm sendo utilizados na área da programação metabólica,
61 exemplo disso seria o modelo de hiperalimentação pós-natal induzido por reajuste de ninhada,
62 que evidencia consequências fisiológicas para as fases posteriores da vida (Habbout; Rochette;
63 Vergely, 2013). Estudos demonstram, que este modelo pode resultar em aumento do peso
64 corporal comparadas às ninhadas sem separação, associados a alterações na resposta hormonal-
65 metabólica, incluindo aumento na secreção de insulina e leptina, hormônios essenciais no que
66 se refere ao consumo alimentar e gasto energético, sendo que estas alterações podem persistir
67 ao longo da vida do animal (Habbout; Rochette; Vergely, 2013; Plagemann, 2008).

68 O aumento da razão ômega-6/ômega-3 nas dietas ocidentais contribuiu para a elevação
69 da incidência de doenças inflamatórias, caracterizadas pela produção excessiva ou inapropriada
70 de mediadores inflamatórios, que incluem os eicosanoides e citocinas, e o reconhecimento do
71 potencial anti-inflamatório dos ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-3 (AGPI ω -3)
72 aumentou o interesse sobre o seu papel na prevenção e o seu uso na terapêutica de doenças
73 inflamatórias agudas ou crônicas (Simopoulos, 2010).

74 Pesquisas apontam que os AGPI ω -3 apresentam efeitos benéficos em distúrbios
75 metabólicos e cardiovasculares, pois detêm propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias
76 (YANG et al., 2019). Durante o período gestacional a suplementação com AGPI ω -3 é
77 fortemente relevante. Estudos apontam que essa suplementação traz benefícios para o
78 neurodesenvolvimento fetal e neonatal, crescimento e desenvolvimento normal do feto,
79 diminuição do estresse oxidativo, além reduzir o risco de possíveis distúrbios gestacionais e a

80 longo prazo na vida da recém-nascido (Greenberg; Bell; Ausdal, 2008; Wadhwani; Patil; Joshi,
81 2018; Elshani; Kotori; Daci, 2021).

82 O óleo de chia destaca-se como a principal fonte vegetal de ácidos graxos ômega-3,
83 apresentando 68% da sua composição de ácido α -linolênico (C18:3,
84 ALA), um ácido graxo essencial, visto que o mesmo não é sintetizado pela nosso corpo e sua
85 ingestão pela dieta é se torna necessário. Além de exibir conteúdo de tocoferóis, fitoesteróis,
86 carotenoides e compostos fenólicos (Reyes-Csudillo; Tecante; Valdivia-López, 2008; Ixtaina
87 et al., 2011; Martínez-Cruz; Paredes-López, 2014; Marineli et al., 2015). O ALA é o precursor
88 biológico do ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosaheptaenóico (DHA), exemplos de
89 AGPI ω -3, importantes por derivarem para a produção de eicosanoides envolvidos em
90 processos metabólicos e inflamatórios. Ademais, o óleo também contém polifenóis, compostos
91 fenólicos bioativos (Elshani; Kotori; Daci, 2021; Parker et al., 2018; Marineli et al., 2015a;
92 Marineli et al., 2015b). Sendo assim, exibe poder antioxidante, anti-inflamatório e potenciais
93 benéficos frente a distúrbios metabólicos (Moreira et al., 2022; Ahmed et al., 2021; Cavalli et
94 al., 2021).

95 Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da suplementação
96 materna com o óleo de chia em marcadores metabólicos, como perfil glicídico e lipídico, além
97 de marcadores do estresse oxidativo hepático, na prole adulta submetidos à hiperalimentação
98 pós-natal, como um modelo de programação metabólica.

99

100 **2 MATERIAL E MÉTODOS**

101 **2.1 Animais**

102 Esse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFLA),
103 sob protocolo nº 050/2019, e foi conduzido no Biotério do Departamento de Nutrição (DNU)
104 da UFLA. O período experimental teve duração de aproximadamente 180 dias. Para o estudo
105 em questão foram obtidos no Biotério Central da UFLA 30 camundongos fêmeas e 10 machos
106 da linhagem BALB/c com idade entre 45-55 dias e peso médio de 30g, para a o acasalamento
107 e formação dos grupos hiperalimentados e controles. Durante todo o período experimental os
108 animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, com temperatura controlada $22\pm 2^{\circ}\text{C}$
109 e consumo de ração padrão (NUVILAB CR1®) e água *ad libitum*. A geração F1, obtida pelo
110 acasalamento dos animais utilizados, somou-se em 73 camundongos machos que foram
111 utilizados nas análises experimentais propostas pelo estudo.

112

113 **2.2 Extração dos óleos para caracterização**

114 Pesou-se 100mg de cada óleo (chia e milho) para solubilização em hexano. Em seguida foi
115 adicionado NaOH e posteriormente aquecido em banho-maria a 65-70°C até que os glóbulos
116 de gordura ficassem transparentes (3-5min). Após esse tempo o tubo foi resfriado em água
117 corrente e adicionou-se uma solução esterificante, com agitação por 30 segundos. Logo após, o
118 tubo foi novamente aquecido em banho-maria na mesma temperatura por 5 min, com
119 resfriamento subsequente. Em seguida acrescentou 4mL de NaCl com homogeneização
120 adequada adicionou-se novamente a solução de hexano e agitou-se por 30s. Após esse processo,
121 os tubos foram mantidos na estufa a 37°C para que as fases fossem separadas (Instituto Adolfo
122 Lutz, 2008). A fase superior foi utilizada para análise cromatográfica realizada pela Central de
123 Análises e Prospecção Química da Universidade Federal de Lavras.

124

125 **2.3 Suplementação materna com óleo de chia e reajuste das ninhadas**

126 Durante o período de acasalamento até o desmame da prole (21 dias após o nascimento),
127 as mães foram suplementadas com óleo de chia de origem comercial, marca Pазze, lote 05079-
128 5, comprado no comércio da cidade de Lavras ou óleo de milho comercial como controle
129 negativo, com intuito de comparativo dos efeitos negativos do ômega 6, marca Liza, lote L07C
130 na dose definida (5g/kg), já os animais sem suplementação receberam água por gavagem para
131 padronização da técnica em todos os animais. No total foram aproximadamente 56 dias de
132 suplementação materna e os grupos formados estão descritos no desenho experimental (Figura
133 1).

134

135 **2.4 Desenho experimental**

136 Para o acasalamento, separou-se 1 macho para cada 3 fêmeas durante 14 dias. Após esse
137 tempo, as fêmeas continuaram juntas até o nascimento das proles. Durante esse período, de
138 acordo com o óleo estabelecido, as mães receberam a suplementação. Após 2 dias de
139 nascimento dos filhotes, as ninhadas foram reajustadas em quatro diferentes grupos. Os grupos
140 Controle (C), Controle óleo de chia (COC) e controle óleo de milho (COM), foram mantidos
141 nas ninhadas convencionais, isto é, de 8-10 filhotes. Para a formação dos grupos
142 Hiperalimentados (H), Hiperalimentado óleo de chia (HOC), hiperalimentado óleo de milho
143 (HOM) reduziu-se o número de filhotes por ninhada para 3-4.

144 C= Controle com ninhada padrão (8-10 filhotes) e mães sem suplementação.

145 COC= Controle com ninhada padrão (8-10 filhotes) e mães e mães suplementadas com
146 óleo de chia.

147 COM= Controle com ninhada padrão (8-10 filhotes) e mães e mães suplementadas com
148 óleo de milho.

149 H = Hiperalimentação pós-natal com ninhada reajustada para 3-4 filhotes e mães sem
150 suplementação.

151 HOC= Hiperalimentação pós-natal com ninhada reajustada para 3-4 filhotes e mães
152 suplementadas com óleo de chia.

153 HOM= Hiperalimentação pós-natal com ninhada reajustada para 3-4 filhotes e mães
154 suplementadas com óleo de milho.

155 O peso corporal (PC) foi monitorado semanalmente, através de balança eletrônica,
156 durante todo o período experimental. A porcentagem de ganho de peso corporal foi calculada
157 por $(PF-PI/PI) \times 100$, sendo PF: peso final (g) aos 120 dias e PI: peso inicial (g) aos 21 dias. O
158 índice de Lee (Novelli et al., 2007). foi calculado a partir da divisão da raiz cúbica do PC, em
159 gramas, pela medida do comprimento do camundongo, em centímetros, da ponta do nariz ao
160 ânus.

161

162 **2.4.1 Eutanásia**

163 Aos 120 dias de vida após um período de 12 horas de jejum, os animais foram
164 anestesiados intraperitonealmente com uma mistura de Ketamina (200 mg/kg), Xilazina
165 (30mg/kg) e algodão umedecido em isoflurano colocado na região nasal e, posteriormente,
166 eutanasiados por exsanguinação cardíaca. O sangue coletado foi centrifugado para obtenção do
167 plasma. O fígado e os tecidos adiposos epididimal (TAE) e retroperitonal (TAR) foram
168 removidos, pesados e armazenados em freezer -80°C, para as análises posteriores.

169

170

171

172

173

174

175

176

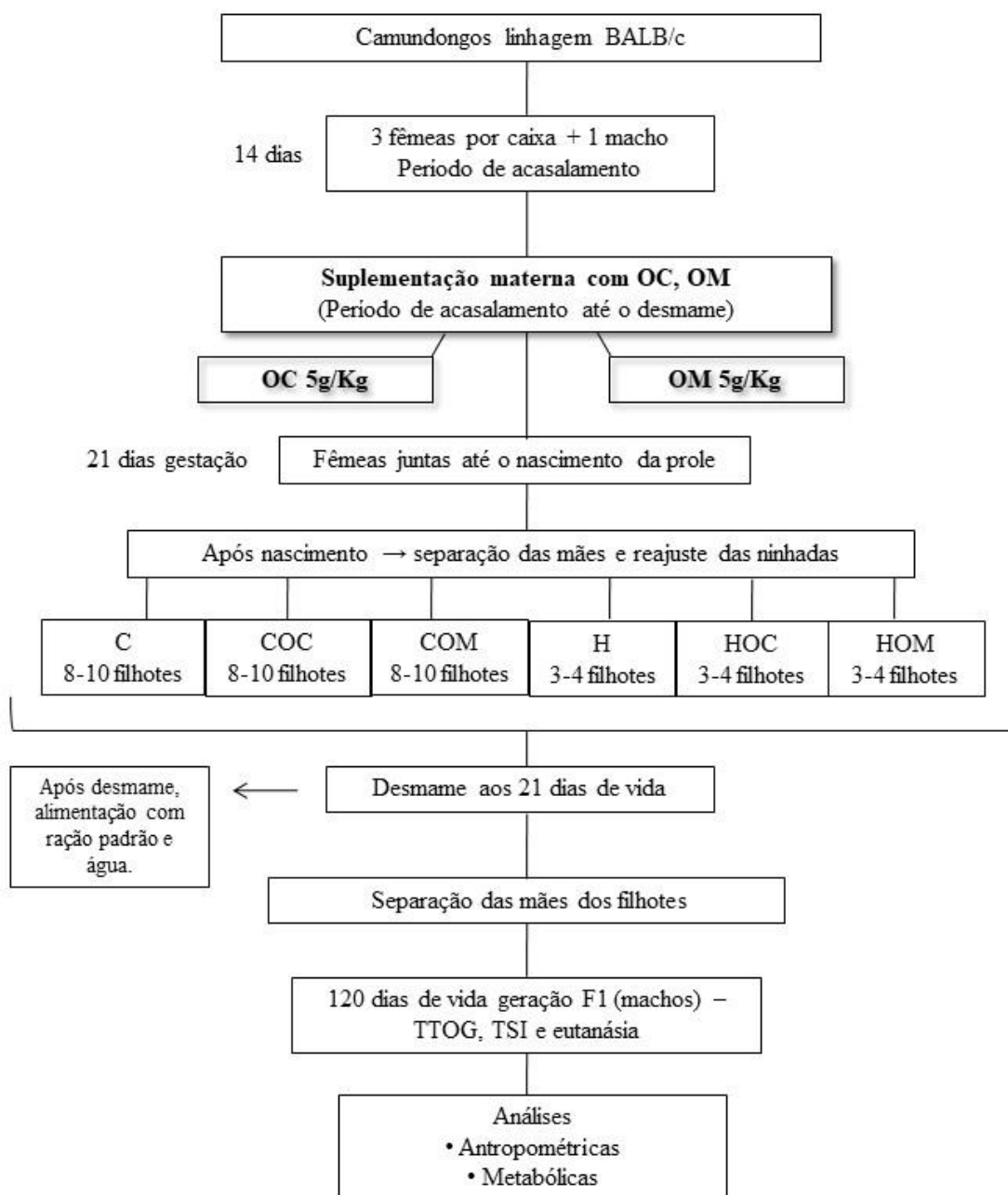
177

178

179

180

181 Figura 1 - Desenho Experimental. OC: óleo de chia, OM: óleo de milho, C: controle, COC:
 182 controle óleo de chia, COM: controle óleo de milho, H: hiperalimentado, HOC:
 183 hiperalimentado óleo de chia, HOM: hiperalimentando óleo de milho, TTOG: teste
 184 de tolerância oral a glicose, TSI: teste de sensibilidade a insulina.



185

186

187

188

2.5 Teste de tolerância oral a glicose e teste de sensibilidade a insulina

189

190

Aos 120 dias de vida, realizou-se o teste de tolerância oral à glicose (TTOG), onde após jejum de 6 horas, os animais receberam solução de D-glicose, 2g/kg de peso corporal, por

Fonte: Do autor (2023).

191 gavagem. A glicemia caudal foi monitorada com auxílio de um glicosímetro Accu-Chek Active
192 ®, nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 minutos após a gavagem. Os dados da glicemia estão
193 apresentados em mg/dL. A área sob a curva (AUC) foi calculada a partir do ponto da glicemia
194 no tempo zero e do tempo 120 min, utilizando o programa GraphPad Prism versão 5.0.

195 No dia seguinte ao TTOG foi realizado o teste de sensibilidade à insulina (TSI) nos
196 animais. O teste de sensibilidade à insulina foi realizado em camundongos alimentados, os quais
197 receberam injeção intraperitoneal de insulina regular (0,75 U insulina/kg de PC). As amostras
198 de sangue foram retiradas da cauda dos animais aos 0, 15, 30 e 60 minutos após a injeção para
199 aferição dos níveis de glicose utilizando glicosímetro Accu-Chek Active ®. Os dados da
200 glicemia serão apresentados em mg/dL (Santos et al, 2008). A área sob a curva (AUC) foi
201 calculada a partir do ponto da glicemia no tempo zero e do tempo 60 min, utilizando o programa
202 GraphPad Prism versão 5.0.

203

204 **2.6 Perfil glicêmico e lipidêmico**

205 As concentrações plasmáticas, em jejum, de glicose, triacilglicerol (TAG), colesterol
206 total e HDL-colesterol foram determinadas através de métodos enzimáticos colorimétricos, de
207 acordo com os sistemas comerciais Liquiform® (Labtest Diagnóstica). As amostras foram
208 preparadas e as análises foram realizadas de acordo com as instruções do fabricante. Os valores
209 estão apresentados em mg/dL.

210

211 **2.7 Concentração sérica de insulina**

212 A concentração de insulina no soro foi quantificada por meio do kit ELISA (*Enzyme-*
213 *Linked Immunosorbent Assay*) específico para camundongos (Ref. RAB0817, Merck KGaA,
214 Darmstadt, Alemanha). O procedimento seguiu o protocolo de acordo com o fabricante. O
215 resultado está expresso em UI/mL.

216

217 **2.8 Conteúdo de lipídios do tecido hepático**

218 Os lipídios foram extraídos por solventes orgânicos de acordo com a metodologia de
219 Folch, Lees e Sloany Stanley (1957). As amostras extraídas permaneceram na estufa para a
220 secagem a 37°C, por cerca de três dias, para se obter os de lipídios totais.

221

222 **2.9 Estresse oxidativo do tecido hepático**

223 Amostras de tecido hepático 100mg de tecido acrescido de 1,0mL de PBS foram
224 homogeneizadas, centrifugadas a 12000 rpm por 10 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi

225 armazenado a -20 °C para as dosagens posteriores de produção de espécies reativas ao ácido
226 tiobarbitúrico, hidroperóxido, atividade de superóxido dismutase e catalase. Proteínas totais das
227 amostras foram determinadas pelo método de Bradford (1976).

228

229 **2.9.1 Dosagem de peroxidação lipídica**

230 A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada pela determinação das substâncias
231 reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com Wallin et al. Foi adicionado 1mL de
232 solução TBARS (contendo ácido tricloroacético (TCA 15%), ácido tiobarbitúrico (TBA
233 0,0375%) e ácido clorídrico (HCL 0,25 N) nas amostras. Os tubos foram mantidos em banho-
234 maria fervente (100°C) por 15 minutos e então colocadas sob água corrente até esfriarem.
235 Posteriormente, foram adicionados 0,75mL de álcool butílico, e centrifugadas. A leitura foi
236 realizada a 535nm. A concentração de TBARS foi expressa por nmol de malondialdeído
237 (MDA)/mg de proteína.

238

239 **2.9.2 Dosagem de hidroperóxidos**

240 A dosagem da concentração de hidroperóxidos foi realizada por meio do ensaio da
241 oxidação ferrosa do Xilenol Orange (Nourooz-Zadeh, 1994; Nelson Dp, 1972). O ensaio
242 consiste basicamente na oxidação de íons ferrosos (Fe^{2+}) a férricos (Fe^{3+}) sob condições ácidas
243 pelos hidroperóxidos, o indicador utilizado Xilenol Orange, se liga ao íon férrico produzindo
244 um cromóforo azul-arroxeadado. A absorvância foi lida a 560nm. Os resultados foram expressos
245 por $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína.

246

247 **2.9.3 Atividade da enzima catalase**

248 A dosagem da atividade de catalase (CAT) se baseia no decaimento da absorvância do
249 peróxido de hidrogênio (H_2O_2) – (Abs240) pela metabolização deste pela catalase ($2H_2O_2$
250 $=2H_2O + O_2$) (DIETERICH DC et al, 2007). Em 100 μL de homogenato foram acrescentados
251 2mL de tampão fosfato 50mM e 50 μL de solução de H_2O_2 (0,3M) e lida a absorvância no
252 espectrofotômetro em 240nm em 0 e 60 segundos. A atividade da CAT foi calculada utilizando
253 a seguinte equação: $(\text{abs}0\text{seg}-\text{abs}60\text{seg}/0,1) * \text{diluição}/\text{mg}$ de proteína. Os resultados foram
254 expressos por $\Delta E/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

255

256 **2.9.4 Dosagem da atividade da enzima Superóxido Dismutase**

257 A dosagem da concentração da superóxido dismutase (SOD) é baseada na sua
258 habilidade de limpar o radical O_2 , diminuindo a razão de auto-oxidação do pirogallol,

259 metodologia adaptada de Dieterich et al. (2006). Em 30 μ L de homogenato foram acrescentados de
260 99 μ L de tampão fosfato, 6 μ L de MTT (brometo de dimetiltiazol- difeniltetrazolium) e 15 μ L de
261 pirogallol. Após 5 minutos de incubação a 37°C, a reação foi parada com 150 μ L de DMSO
262 (dimetil sulfóxido) e a absorbância lida a 570nm. O resultado é expresso em U SOD/mg de
263 proteínas/mL.

264

265 **2.10 Microscopia de luz do tecido hepático**

266 Fragmentos do fígado foram coletados e fixados em solução de formaldeído a 4% por
267 72h e posteriormente transferidos para solução de etanol a 70%. Em seguida, as amostras foram
268 desidratadas sem serie alcoólica (70, 80, 90, 95 e 100%) por intervalos de 30 min cada,
269 diafanizadas em xilol e embebidas em parafina. Os blocos obtidos foram seccionados em
270 micrótomo Lupetec MRP09 a 4 μ m e distribuídos em lâmina de vidro. Um mínimo de três
271 lâminas com dois cortes cada foram obtidas para cada amostra. Os cortes foram então corados
272 com hematoxilina e eosina. As lâminas foram montadas com Entellan® e lamínula para
273 posterior análise histopatológica. As lâminas histológicas foram avaliadas por um pesquisador
274 independente e de forma cega, especialista em patologia veterinária e, a fim de identificar a
275 ocorrência de lesões ou qualquer outro tipo de alteração microscópica. As imagens histológicas
276 foram capturadas com câmera acoplada a microscópio óptico (microscópio binocular CX31,
277 Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil).

278

279 **2.11 Análises estatísticas**

280 Os dados foram descritos por média e desvio padrão. A normalidade dos dados foi
281 avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. As análises estatísticas para dados paramétricos foram
282 realizadas por ANOVA one-way seguida do Teste de Tukey, para dados não paramétricos
283 foram realizadas por ANOVA one-way seguida do Teste de Dunn's. As análises e gráficos
284 foram elaborados utilizando o programa GraphPad Prism, versão 5.0. O nível de significância
285 adotado foi de $p < 0,05$.

286

287 **3 RESULTADOS**

288 **3.1 Análise da composição química dos óleos**

289 O óleo de chia de origem comercial, marca Pазze, lote 05079-5, c apresenta composição
290 química lipídica ω -3: 52% / ω 6: 23% / ω 9: 13%/ demais ácidos graxos 12%. Já o óleo de milho
291 comercial, marca Liza, lote L07 C, apresentou em sua composição ω 6: 47% / ω 9:36%/ demais
292 ácidos graxos 17%.

293

294 **3.2 Peso corporal e peso dos tecidos**

295 O peso corporal da prole de camundongos foi aferido semanalmente durante todo o
 296 processo experimental. Os valores estão apresentados na Tabela 1. Foi possível observar que o
 297 peso corporal total aos 21 dias foi 26% maior no grupo H comparado ao grupo C ($p<0,05$) e
 298 29% maior no grupo HOC comparado ao grupo COC ($p<0,05$). Já aos 120 dias a diferença de
 299 peso corporal se manteve apenas no grupo HOC, o qual foi 14% maior comparado ao grupo
 300 COC ($p<0,05$).

301 Em relação ao percentual de ganho de peso, foi possível observar que o grupo HOM foi
 302 46% menor comparado ao grupo COM ($p<0,05$). Ao analisar o Índice de Lee, parâmetro
 303 utilizado para mensurar obesidade, observou-se que o grupo HOC foi 10% maior comparado
 304 ao grupo COC ($p<0,05$).

305

306 Tabela 1 - Peso corporal aos 21 e 120 dias de vida, Ganho de peso (%) e Índice de Lee dos
 307 grupos Controle (C), Controle suplementado com óleo de chia (COC), Controle
 308 suplementado com óleo de milho (COM), Hiperalimentado (H), Hiperalimentado
 309 suplementado com óleo de chia (HOC), Hiperalimentado suplementado com óleo
 310 de milho (HOM).

	C n= 14	COC n= 11	COM n= 13	H n= 11	HOC n= 10	HOM n=14
Peso 21 dias (g)	10,29±0,75	10,39±1,61	9,95±2,69	12,98±1,394 ^{\$}	13,41±1,42 [*]	13,51±2,52
Peso 120 dias (g)	35,89±1,84	34,63±1,93	35,84±3,01	38,27±1,66	39,69±1,94 [*]	37,56±3,49
Percentual de ganho de peso (%)	250,9±33,08	241,8±64,90	284,8±102,3 ^{##}	198,3±37,92	199,1±37,0	184,6±46,24
Índice de Lee	1,25±0,05	1,21±0,05	1,24±0,07	1,31±0,06	1,34±0,06 [*]	1,29±0,11

311 Dados apresentados como média ± desvio padrão da média * $p<0,05$ vs COC; ## $p<0,05$ vs HOM; \$
 312 $p<0,05$ vs C; * $p<0,05$ vs COC; * $p<0,05$ vs COC

313 Fonte: Do autor (2023).

314

315 Em relação ao peso dos tecidos normalizados pelo peso corporal total, indicados na
 316 Tabela 2, não houve diferença significativa em nenhum dos grupos.

317

318

319

320

321

322 Tabela 2 - Peso do fígado, tecido adiposo (TA) retroperitoneal e epididimal normalizados pelo
 323 peso corporal (PC em g) em relação aos grupos Controle (C), Controle suplementado
 324 com óleo de chia (COC), Controle suplementado com óleo de milho (COM),
 325 Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com óleo de chia (HOC),
 326 Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM).

Peso dos tecidos	C n= 14	COC n= 11	COM n= 13	H n= 11	HOC n= 10	HOM n= 14
Fígado (g/g de PC)	0,04508±0,0032	0,0477±0,0039	0,0433±0,0048	0,0448±0,0051	0,0495±0,0064	0,0456±0,0043
TA retroperitoneal (g/g de PC)	0,0022±0,0013	0,0022±0,0010	0,0041±0,0019	0,0029±0,0021	0,0028±0,0014	0,0028±0,0022
TA epididimal (g/g de PC)	0,0099±0,0048	0,0118±0,0031	0,0010±0,0039	0,0121±0,0032	0,0127±0,0045	0,0112±0,0067

327 Dados apresentados como média ± desvio padrão.

328 Fonte: Do autor (2023).

329

330 3.3 Marcadores Metabólicos

331 Ao investigar a tolerância à glicose, verificou-se que o grupo HOM teve uma média de
 332 glicemia maior que o grupo COM nos tempos 0 e 120 min ($p<0,05$) (Figura 2A), com
 333 consequente aumento da área sob a curva (HOM vs COM, $p<0,05$) (Figura 2B) .do grupo HOM
 334 em relação ao COM. Não houve diferenças significativas entre os outros grupos. Já em relação
 335 à sensibilidade à insulina, observou-se que o grupo HOC apresentou menor glicemia em relação
 336 ao COC no tempo 15min (Figura 2C), sendo que na AUC apresentou a mesma redução (Figura
 337 2D). Já no tempo 30 e 60min, o grupo HOM apresentou maior glicemia em relação ao grupo
 338 HOC, fato que também foi notado na AUC ($p<0,05$). Outras diferenças entre os grupos não
 339 foram encontradas.

340

341

342

343

344

345

346

347

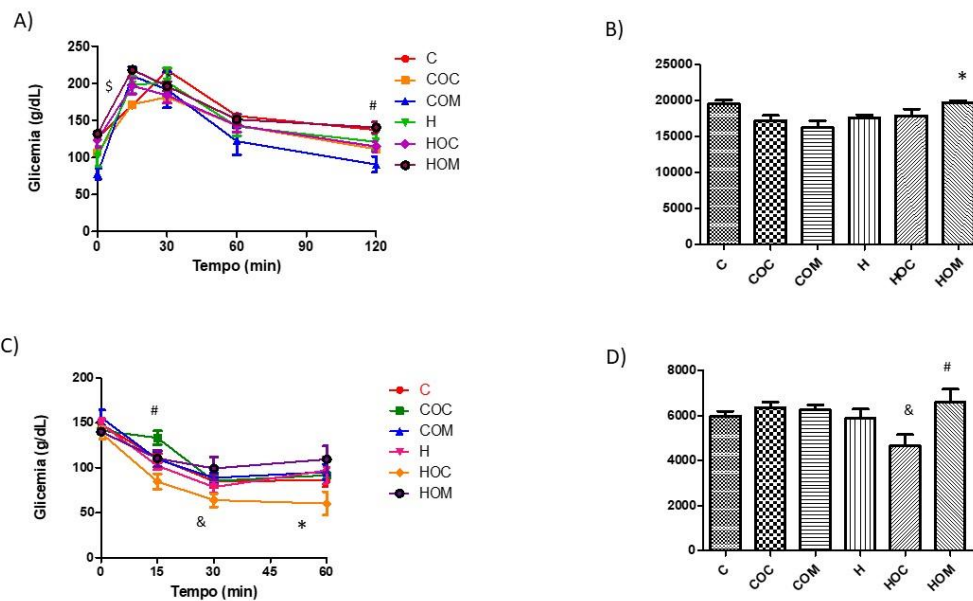
348

349

350

351

352 Figura 2 A) Curva Glicêmica (mg/dL) vs tempo (min) do Teste de Tolerância Oral à Glicose
 353 (TTOG); B) AUC aos 120 dias de vida dos grupos experimentais do TTOG; C) Curva
 354 Glicêmica (mg/dL) vs tempo (min) do Teste de Sensibilidade a Insulina (TSI) e D)
 355 AUC aos 120 dias de vida dos grupos experimentais do TSI. Controle (C), Controle
 356 suplementado com óleo de chia (COC), Controle suplementado com óleo de milho
 357 (COM), Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com óleo de chia
 358 (HOC), Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM). # HOM vs COM
 359 ($p < 0,05$), * HOM vs COM ($p < 0,05$), # HOC vs COC ($p < 0,05$), &*HOM vs HOC
 360 ($p < 0,05$), &# HOM vs HOC ($p < 0,05$)



361
 362
 363

Fonte: Do autor (2023).

364 A glicemia, insulinemia e lipidograma (Tabela 3) se revelaram semelhantes entre os
 365 grupos, somente os triacilgliceróis do grupo COC apresentaram concentrações aumentadas
 366 quando comparados ao grupo COM. Na análise tecidual do fígado, os lipídios totais não
 367 apresentaram variação significativa entre os grupos.

368
 369
 370
 371
 372
 373
 374
 375
 376

377 Tabela 3 - Glicemia, insulinemia e perfil lipídico em jejum dos grupos experimentais Controle
 378 (C), Controle suplementado com óleo de chia (COC), Controle suplementado com
 379 óleo de milho (COM), Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com
 380 óleo de chia (HOC), Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM).

	C n= 5	COC n= 5	COM n= 5	H n= 5	HOC n= 5	HOM n= 5
<u>Parâmetros</u>						
<u>Plasmáticos</u>						
Glicemia (mg/dL)	68,37±29,2 1	113,4±25,6 1	48,91±58,3 8	68,91±55,0 1	133±26,92	108,2±45,0 3
Insulinemia (IU/mL)	162,3±70,7 9	195,4±117, 1	90±27,83	104±53,83	247,4± 177,2	118,7±95,5 6
Colesterol total (mg/dL)	77,60±28,2 4	62,32±36,8 3	46,14±18,8 5	48,70±28,8 9	84,49±10,1 4	65,79±25,0 2
HDL-colesterol (mg/dl)	11,2±4,97	9,286±2,03	7,801±2,42	11,33±8,47	10,43±2,55	7,80±2,42
Triacilgliceróis (mg/dL)	52,07±10,7 5	69,35±23,3 1*	29,57±1,31	51,63±28,6 5	61,58±13,6 7	39,71±7,07
<u>Lipídios hepáticos</u>						
Lipídios totais (mg/g de fígado)	270,6±67,1 2	320,2±95,5 7	344,8±93,5 3	309,6±68,6 7	324,3±174	297,8±50,9 4

381 Dados apresentados como média ± desvio padrão. Sendo, * p<0,05 vs COM.

382 Fonte: Do autor (2023).

383

384

385 Para avaliar o estresse oxidativo, foram realizadas análises do tecido hepático (Figura
 386 3A, 3B, 3C, 3D). A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada pela determinação das
 387 substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Foi também determinada a dosagem da
 388 concentração de hidroperóxidos, produto de oxidação, além da concentração da enzima
 389 superóxido dismutase (SOD) e atividade da catalase (CAT), enzimas antioxidantes. Nas
 390 análises realizadas, não foi encontrada nenhuma diferença significativa entre os grupos
 391 estudados.

392

393

394

395

396

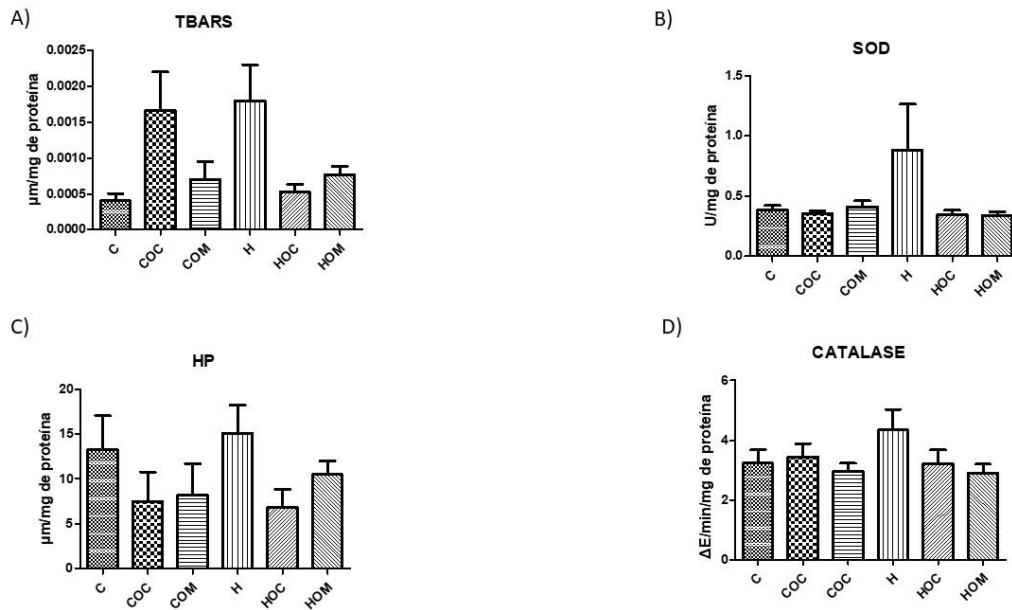
397

398

399

400

401 Figura 3 - Estresse oxidativo hepático. A) Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
 402 (TBARS). B) Concentração de Superóxido dismutase. C) Concentração de
 403 hidroperóxidos. D) Atividade da Catalase. Controle (C), Controle suplementado
 404 com óleo de chia (COC), Controle suplementado com óleo de milho (COM),
 405 Hiperalimentado (H), Hiperalimentado suplementado com óleo de chia (HOC),
 406 Hiperalimentado suplementado com óleo de milho (HOM).



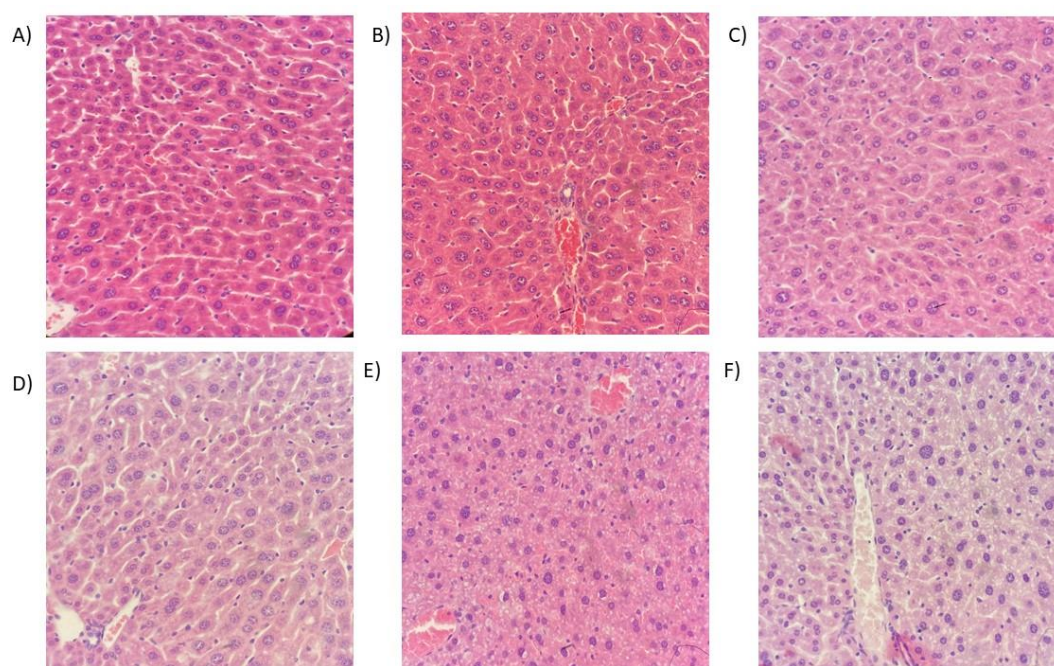
Fonte: Do autor (2023).

407
 408
 409
 410
 411
 412
 413
 414
 415
 416
 417
 418
 419
 420
 421
 422
 423
 424
 425
 426
 427
 428
 429

3.4 Análise histológica do fígado

As análises histológicas do tecido hepático (Figura 4) não apresentaram nenhuma variação significativa entre os grupos. Todos apresentaram características comuns para fígado de camundongos como, por exemplo, vacuolizações discretas aleatórias, moderadas em regiões centro lobulares.

430 Figura 4 - Análises Histopatológicas por microscopia de luz. A) Grupo Hiperalimentado. B)
431 Grupo Hiperalimentado Óleo de chia. C) Grupo Hiperalimentado Óleo de Milho.
432 D) Grupo Controle. E) Controle Óleo de Chia. F) Controle Óleo de Milho.



433
434 Fonte: Do autor (2023).
435

433
434
435

436 **4 DISCUSSÃO**

437 Em animais mudanças na nutrição e crescimento durante o início da vida pós-natal
438 podem ter efeitos permanentes no metabolismo na idade adulta (Kayser, Gouran, Bouret et al.,
439 2015). O presente trabalho utilizou redução do tamanho da ninhada a fim de investigar os efeitos
440 da suplementação materna com óleo de chia, apresentando como foco a análise da dosagem
441 anteriormente definida (5mg/kg) do óleo, utilizando óleo de milho como controle negativo e
442 água (placebo).

443 O excesso de alimentação, na vida pós-natal precoce, é uma janela crítica para o
444 desenvolvimento, resulta a longo prazo em consequências para o ganho de peso e equilíbrio
445 energético, contribuindo para o aumento na incidência de doenças metabólicas na idade adulta,
446 os quais ainda não são completamente explicados por fatores genéticos e de estilo de vida
447 (Enes-Marques et al., 2020).

448 No presente trabalho, os animais hiperalimentados suplementados com óleo de chia e
449 sem suplementação, mostraram maior peso aos 21 quando comparados aos seus controles, já
450 aos 120 dias somente os animais suplementados com óleo de chia tiveram peso maior. Em
451 estudos prévios, EnesMarques; Giusti-Paiva (2018), Conceição et al (2013) e Rodrigues et al
452 (2009) reajustaram ninhadas de ratos Wistar para modelo de hiperalimentação, e demonstraram

453 que estes desenvolveram aumento de peso corporal precocemente, sendo notado já ao desmame
454 e persistindo na idade adulta, fato não encontrado em nosso trabalho

455 O índice de Lee foi maior no grupo HOC comparado ao seu controle. Esse índice pode
456 ser utilizado como uma maneira simples de mensurar obesidade em experimentos sujeitos a um
457 método de ganho de peso. Entretanto, a associação do índice de Lee com outros parâmetros,
458 como metabólicos, é necessária para melhor interpretação dos resultados (Bernardis; Patterson,
459 1968; Bressan *et al.*, 2013). O aumento da adiposidade está intimamente relacionado ao
460 aumento da geração de EROs e ao estresse oxidativo, podendo ser uma condição precoce no
461 desenvolvimento de doenças crônicas que estão relacionadas a obesidade. Estudos com
462 modelos de hiperalimentação pós-natal têm demonstrado redução na atividade de enzimas
463 antioxidantes, como SOD, CAT, GPx e aumento de dano oxidativo no tecido hepático
464 (Conceição *et al.*, 2013; Habbout *et al.*, 2012, 2013; Monteiro, 2020). Surpreendentemente, o
465 modelo de hiperalimentação aqui explorado não exibiu alterações dos marcadores de estresse
466 oxidativo nos tecidos adiposo epididimal e hepático, fato que impossibilitou analisar o potencial
467 modulatório do óleo de chia nesse contexto.

468 Além disso, é importante ressaltar que o ALA encontrado no óleo da semente de chia é
469 o precursor nutricional do ácido docosahexaenóico (DHA) e do ácido eicosapentaenóico (EPA).
470 O DHA está relacionado com diversas funções no corpo humano, exercendo um papel
471 fundamental no desenvolvimento fisiológico e normal do indivíduo desde a fase embrionária
472 até os anos posteriores de vida. EPA e DHA apresentam funções na adiposidade, modulação do
473 perfil de ácidos graxos e metabolismo glicídico. A conversão de ALA em seus metabólitos e
474 sua concentração no leite materno é um processo altamente regulado e para que aconteça de
475 forma adequada é necessário que a quantidade de ALA ingerido pela mãe seja suficientemente
476 alta devido à sua transformação metabólica em DHA (Poudyal *et al.*, 2013; Valenzuela *et al.*,
477 2015).

478 Em projeto piloto desenvolvido inicialmente pelo grupo de pesquisa, ficou evidente que
479 na prole hiperalimentada, cujas mães foram suplementadas com óleo de chia nas dosagens de
480 2,5 e 5g/kg PC/dia, sendo que as alterações metabólicas foram atenuadas especialmente na dose
481 de 5g/kg PC/dia; o peso corporal e as demais dosagens bioquímicas (teciduais e sistêmicas)
482 mantiveram-se semelhantes aos animais controles durante toda fase experimental. Isto posto,
483 questiona-se a possibilidade de que o possível potencial modulatório do óleo de chia seja dose-
484 dependente. Dados os fatos apresentados, a escolha da dosagem no presente trabalho se baseou
485 nos resultados anteriores.

486 Ademais, o tipo de óleo utilizado pode ter influenciado nos resultados encontrados, visto
487 que em muitos estudos nessa linha utiliza-se óleo de peixe. Em dados ainda não publicados do
488 nosso grupo de pesquisa, foi avaliado os efeitos da suplementação materna com óleo de peixe
489 (1g/kg pc/dia) na modulação de marcadores metabólicos em animais hiperalimentados em
490 período pós-natal, a suplementação ocorreu durante os períodos de acasalamento, gestação e
491 lactação. A suplementação indireta preveniu a intolerância à glicose, o aumento da glicemia em
492 jejum, do colesterol total e LDL-c nos animais adultos, além de elevar suas frações de HDL-c
493 quando comparados aos animais do grupo H não suplementado. Os níveis séricos de leptina e
494 resistina também foram reduzidos nos animais cujas mães foram suplementadas (Lopes, 2020).

495 No entanto, os dados ainda não são consenso, visto que outros estudos avaliaram a
496 suplementação materna com óleo de peixe em diferentes tempos gestacionais, durante o
497 segundo e terceiros trimestres, e não foi observado efeito do óleo de peixe sobre os parâmetros
498 de composição corporal dos filhotes (Rytter et al., 2011; Rytter et al., 2013; Muhlhausler et al.
499 2016).

500 Para mais, o tecido hepático pode não ser o melhor para avaliar os benefícios causados
501 pela suplementação de PUFAS. Há um número considerável de evidências que apontam o fato
502 de que a suplementação dietética com ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa atenuaria
503 o ganho de peso corporal e acúmulo de gordura, por meio de alterações na expressão de genes
504 envolvidos na regulação da oxidação de gordura no tecido adiposo. Essas alterações na
505 expressão gênica contribuem para o aumento da oxidação de gordura e redução da deposição
506 de gordura (Buckley; Howe, 2010). Um estudo com camundongos Swiss que foram
507 alimentados com uma dieta rica em gordura e receberam suplementação com óleo de chia
508 (1,5g/kg de dieta) apresentou melhora no metabolismo da glicose dos animais obesos
509 suplementados. Os autores sugeriram que o resultado se deva ao aumento do escurecimento do
510 tecido adiposo subcutâneo, com benefícios no metabolismo da glicose e na resistência à insulina
511 relacionada à obesidade (Fonte-Faria et al., 2019).

512 Em modelos de hiperalimentação pós-natal, alterações na homeostase de glicose e
513 lipídica podem ser encontradas, com aumento da glicemia e tolerância à glicose reduzida
514 (Boullu-Ciocca et al, 2005; Kappeler et al, 2009; Plagemann et al., 1999), o que corrobora com
515 parte dos resultados do presente estudo, visto que o grupo HOM apresentou maior média de
516 glicemia em relação ao seu controle no TTOG nos tempos 0 e 120min, ou seja, um aumento da
517 intolerância à glicose. Já no TSI, o grupo HOC apresentou glicemia menor em relação ao seu
518 controle. Fonte-Faria (2019), em seu estudo, suplementou camundongos C57BL/6 com óleo de
519 chia (1 g/kg de dieta) que também receberam dieta rica em gordura. Os resultados foram

520 semelhantes, na sensibilidade à insulina dos camundongos obesos, assim como diminuições dos
521 níveis sanguíneos de leptina e triacilgliceróis. O estudo também demonstrou que a
522 suplementação direta com óleo de chia em camundongos obesos promoveu aumento da massa
523 magra e diminuição de gordura, com o peso corporal mantendo-se inalterado. Em nosso estudo
524 o percentual de ganho de peso dos animais suplementados com óleo de chia também permaneceu
525 sem alteração.

526 Marineli et al (2015) demonstraram que a suplementação com semente e óleo de chia
527 em ratos Wistar obesos induzido por dieta rica em gordura e frutose melhorou a tolerância à
528 glicose e a sensibilidade à insulina, via aumento da expressão de HSP70 e HSP25, importantes
529 proteínas de choque térmico inibidoras das quinases JNK e IKK β . Além disso, houve redução
530 na concentração dos marcadores de lesão hepática, aspartato aminotransferase (AST) e alanina
531 aminotransferase (ALT), e o óleo de chia restaurou a expressão da superóxido dismutase e da
532 glutatona peroxidase.

533 Admite-se que o modelo explorado nessa investigação apresentou limitações, visto que
534 algumas alterações metabólicas esperadas não foram detectadas de forma significativa nos
535 animais expostos à hiperalimentação pós-natal, fato que limitou, em parte, uma conclusão sobre
536 o potencial modulatório do óleo de chia sob estudo. Acredita-se que essa limitação se justifica,
537 em parte, pela linhagem utilizada.

538 Nesse estudo, utilizou-se camundongos BALB/c, animais que possuem homogeneidade
539 genética e comumente são utilizados em estudos que induzem a obesidade, imunológicos,
540 cardiovasculares e na produção de anticorpos monoclonais a partir de plasmócitos. No entanto,
541 a grande maioria dos trabalhos na área de pesquisa envolvendo programação metabólica tem
542 utilizado ratos Wistar ou camundongos C57BL/6. Sendo assim, a utilização da linhagem Balb/c
543 seria uma inovação na área. Contudo, animais dessa linhagem parecem apresentar certa
544 resistência às alterações no metabolismo (Saha et al., 2020; Silva-Santana et al., 2020;
545 Yeritsyan et al., 2012).

546 Sendo assim, admite-se ainda ser necessário o aperfeiçoamento do modelo de
547 programação metabólica ora proposto e entende que possivelmente a linhagem Balb/c possa
548 não ser a melhor opção para esse tipo de investigação. Mais pesquisas são necessárias para
549 elucidar o potencial benefício da suplementação materna com o óleo de chia e os dados inéditos
550 dessa pesquisa poderão subsidiar investigações mecanísticas futuras nas desordens metabólicas
551 e inflamatórias.

552

553 **AGRADECIMENTOS**

554 Os autores gostariam de agradecer à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas
 555 Gerais – FAPEMIG e Agência Federal de Apoio e Avaliação da Pós-Graduação (CAPES).
 556 Agradecemos também à Central de Análises e Prospecção Química da Universidade Federal de
 557 Lavras, e a Finep, Fapemig, CNPq e Capes pelo fornecimento dos equipamentos e suporte
 558 técnico para experimentos envolvendo análises cromatográficas.

559

560 **CONFLITO DE INTERESSE**

561 Nenhum.

562

563 **REFERÊNCIAS**

564

565 AHMED, A. Z. *et al.* Chia Seed Oil Ameliorates Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in
 566 Female Wistar Rats: Na Electrocardiographic, Biochemical and Histopathological Approach.
 567 **Cardiovascular Toxicology**, v. 21, p. 533-542, 2021.

568

569 ARGENTE-ARIZÓN P, CASTRO-GONZÁLEZ D, DÍAZ F, FERNÁNDEZ-GÓMEZ MJ,
 570 SÁNCHEZ-GARRIDO MA, TENA-SEMPERE M, *et al.* Neonatal Overnutrition Increases
 571 Testicular Size and Expression of Luteinizing Hormone β -Subunit in Peripubertal Male Rats.
 572 **Front Endocrinol** (Lausanne), v. 9, p. 168, 2018.

573

574 BANERJEE, D *et al.* Measurement of plasma hydroperoxide concentration by FOX-1 assay in
 575 conjunction with triphenylphosphine. **Clinica Chimica Acta**, v. 337, p. 147-152, 2003.

576

577 BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between —lee index and carcass fat
 578 content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of**
 579 **Endocrinology**, v. 40, n. 4, p. 527–528, 1968.

580

581 BLANCO RODRIGUEZ, J.; CAMPRUBÍ SÁNCHEZ, C. Epigenetic transgenerational
 582 inheritance. *In: Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York: Springer New
 583 York LLC, v. 1166, 2019. p. 57–74. *E-book*.

584

585 BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities
 586 of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p.
 587 248-254, 1976.

588

589 BRESSAN, ANDRESSA *et al.* Indução de obesidade com sacarose em ratos. ABCD. **Arquivos**
 590 **Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 26, n. suppl 1, p. 17–21, 2013

591

592 BOULLU-CIOCCA S, DUTOUR A, GUILLAUME V, ACHARD V, OLIVER C, GRINO M.
 593 POSTNATAL Diet-Induced Obesity in Rats Upregulates Systemic and Adipose Tissue
 594 Glucocorticoid Metabolism During Development and in Adulthood. **Diabetes**, v. 54, p.197–
 595 607 203, 2005

596

- 597 BUCKLEY JD, HOWE PRC. Polyunsaturated Fatty Acids May Be Beneficial for Reducing
598 Obesity—A Review. **Nutrientes**, v. 2, p. 1212-1230, 2010.
599
- 600 CAVALLI, J. *et al.* Chia oil prevents chemical and immune-mediated inflammatory responses
601 in mice: Evidence for the underlying mechanisms. **Food Research International**, v. 149, p.
602 110703, 2021.
603
- 604 CONCEIÇÃO, ELLEN P. S. *et al.* Oxidative stress programming in a rat model of postnatal
605 early overnutrition — role of insulin resistance. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.
606 24, n. 1, p. 81–87, 2013.
607
- 608 DIETERICH, D. C. *et al.* Labeling, detection and identification of newly synthesized proteomes
609 with bioorthogonal noncanonical amino-acid tagging. **Nature Protocols**, v. 2, p. 532-540,
610 2007.
611
- 612 ELSHANI, B.; KOTORI, V.; DACI, A. Role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in
613 gestational diabetes, maternal and fetal insights: current use and future directions. **Journal of**
614 **Matern Fetal & Neonatal Medicine**, v. 34, p. 124-136, 2021.
615
- 616 ENES-MARQUES, Silvia *et al.* Neonatal overnutrition programming impairs cholecystokinin
617 effects in adult male rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 86, p. 108494, 2020.
618
- 619 ENES-MARQUES, Silvia; GIUSTI-PAIVA, Alexandre. Litter size reduction accentuates
620 maternal care and alters behavioral and physiological phenotypes in rat adult offspring. **Journal**
621 **of Physiological Sciences**, [S. l.], v. 68, n. 6, p. 789–798, 2018.
622
- 623 FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE, G. H. A simple method for the isolation and purification of
624 total lipides from animal tissues. **Journal of Biology Chemistry**, v. 226, n.1, 1957.
625
- 626 FONTE-FARIA T, CITELLI M, ATELLA GC, RAPOSO HF, ZAGO L, DE SOUZA T, *et al.*
627 Chia oil supplementation changes body composition and activates insulin signaling cascade in
628 skeletal muscle tissue of obese animals. **Nutrition**, v 58, p. 167–74, 2019.
629
- 630 GODFREY, K. M. *et al.* Development, Epigenetics and Metabolic Programming. **Nestle**
631 **Nutritional Institute Workshop Series**, v 85, p. 71-80, 2016.
632
- 633 GREENBERG J. A.; BELL, S. J.; AUSDAL, W. V. Omega-3 Fatty Acid Supplementation
634 During Pregnancy. **Reviews in Obstetrics and Gynecology**, v. 1, n.4, p. 162-169, 2008.
635
- 636 HABBOUT, AHMED *et al.* Postnatal overfeeding in rats leads to moderate overweight and to
637 cardiometabolic and oxidative alterations in adulthood. **Biochimie**, v. 94, n. 1, p. 117–124,
638 2012.
639
- 640 HABBOUT, A.; LI, N.; ROCHETTE, L.; VERGELY, C. Postnatal Overfeeding in Rodents by
641 Litter Size Reduction Induces Major Short- and Long-Term Pathophysiological Consequences.
642 **Journal of Nutrition**, v. 143, p. 553-562, 2013.
643
- 644 HANLEY, B. *et al.* A review of metabolic programming, imprinting and epigenetics. **British**
645 **Journal of Nutrition**, v. 104, p. S1-25, 2010.
646

- 647 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-**
648 **químicos para análises de alimentos.** Org.: ZENECON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P.
649 4ª ed. (1ª Edição digital), São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.
650
- 651 LOPES, I. Q. P. **Maternal fish oil supplementation improves metabolic disorders and**
652 **reduces oxidative stress markers in mice overfed during postnatal period.** Dissertação
653 (Mestrado em Nutrição e Saúde) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 60 p., 2019.
654
- 655 IXTAINA, V. Y. *et al.* Characterization of chia seed oils obtained by pressing and
656 solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.
657 24, n. 2, p. 166-174, 2011.
658
- 659 KAPPELER L, DE MAGALHAES FILHO C, LENEUVE P, XU J, BRUNEI N,
660 CHATZIANTONIOU C, *et al.* Early Postnatal Nutrition Determines Somatotrophic Function in
661 Mice. **Endocrinology**, v.150, p. 314–23, 2009
662
- 663 KAYSER, B. D.; MICHAEL I. G.; BOURET, S. G. Perinatal overnutrition exacerbates adipose
664 tissue inflammation caused by high-fat feeding in C57BL/6J mice. **Plos One** 10, no. 4,
665 e0121954, 2015
666
- 667 LEVIN, B. E. Metabolic imprinting: critical impact of the perinatal environment on the
668 regulation of energy homeostasis. **Philosophical Transactions of the Royal Society B:**
669 **Biological Sciences**, v. 361, n. 1471, p. 1107-1121, 2006.
670
- 671 MARINELLI, R. S. *et al.* Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia*
672 *hispanica* L.) in diet-induced obese rats. **Food Research Internacional**, v. 76, p. 666–
673 674, 2015.
674
- 675 MARINELLI, R. S. *et al.* Chia (*Salvia hispanica* L.) enhances HSP, PGC-1 α expressions and
676 improves glucose tolerance in diet-induced obese rats. **Nutrition**, v. 31, p. 740-748, 2015.
677
- 678 MARTÍNEZ-CRUZ, O.; PAREDES-LÓPEZ, O. Phytochemical profile and
679 nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra-high performance
680 liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1346, p. 43–48, 2014.
681
- 682 MOREIRA, L P. D. *et al.* Chia (*Salvia hispanica* L.) Flour and Oil Ameliorate Metabolic
683 Disorders in the Liver of Rats Fed a High-Fat and High Fructose Diet. **Foods**, v. 11, n.3, p. 285,
684 2022.
685
- 686 MONTEIRO, B. L. **Postnatal overnutrition and undernutrition and immunometabolic**
687 **markers in mice during adulthood.** Dissertação (Mestrado em Nutrição e Saúde) –
688 Universidade Federal de Lavras, Lavras, 51 p., 2020.
689
- 690 MUHLHAUSLER, BEVERLY S *et al.* A suplementação de DHA durante a gravidez não reduz
691 o IMC ou a massa gorda corporal em crianças: acompanhamento do ensaio clínico randomizado
692 e controlado de DHA para otimizar o resultado da mãe-bebê. **The American Journal Of**
693 **Clinical Nutrition**, v. 6, p.1489-1496, 2016.
694

- 695 NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase
696 at 25° C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical**
697 **Biochemistry**, v. 49, p. 474-478, 1972.
698
- 699 NOUROOZ-ZADEH, J.; TAJADDINI-SARMADI, J.; WOLFF, S. P. Measurement of plasma
700 hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylene orange assay in conjunction
701 with triphenylphosphine. **Analytical Biochemistry**, v. 220, p. 403-409, 1994.
702
- 703 NOVELLI, E. L. B. *et al.* Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats.
704 **Laboratory animals**, v. 41, n. 1, p. 111-119, 2007.
705
- 706 PARKER, J. *et al.* Therapeutic Perspectives on Chia Seed and Its Oil: A Review. **Planta**
707 **Medica**, v. 84, p. 606-612, 2018.
708
- 709 PLAGEMANN A, HARDER T, RAKE A, VOITS M, FINK H, ROHDE W, *et al.* Perinatal
710 elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic
711 neurons, and syndrome X-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. **Brain Res**,
712 v. 836, p. 146–55, 1999
713
- 714 PLAGEMANN, A. A matter of insulin: developmental programming of body weight
715 regulation. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 143-148,
716 2008.
717
- 718 POU DYAL, HEMANT *et al.* Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits
719 stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese
720 rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 2, p. 153–162, 2012.
721
- 722 REYES-CSUDILLO, E.; TECANTE, A.; VALDIVIA-LÓPEZ, M. A. Dietary fibre content and
723 antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia*
724 *hispanica* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 656–663, 2008.
725
- 726 RYTTER, DORTE *et al.* Ingestão de óleo de peixe durante a gravidez e adiposidade em
727 descendentes de 19 anos: acompanhamento em um ensaio clínico randomizado. **American**
728 **Journal Of Clinical Nutrition**, v. 3, p.701-708, 2011.
729
- 730 RYTTER, DORTE *et al.* Nenhuma associação entre a ingestão de PUFA n-3 marinho durante
731 o segundo trimestre de gravidez e fatores associados ao risco cardiometabólico no 20-
732 descendência de um ano. **British Journal Of Nutrition**, v. 11, p.2037-2046, 2013
733
- 734 SANTOS SH, FERNANDES LR, MARIO EG, FERREIRA AV, Porto LC, ALVAREZ-LEITE
735 JI, BOTION LM, BADER M, ALENINA N, SANTOS RA. Mas deficiency in fvb/n mice
736 produces marked changes in lipid and glycemic metabolism. **Diabetes**, v. 57, p. 340-347, 2008
737
- 738 SAHA P, XIAO X, LI Y, GOLONKA RM, ABOKOR AA, YEOH BS, *et al.* Distinct iron
739 homeostasis in C57BL/6 and Balb/c mouse strains. **Physiol Rep**, 2020;8:e14441.
740
- 741 SIMOPOULOS, A.P. Genetic variants in the metabolism of omega-6 and omega-3 fatty acids:
742 their role in the determination of nutritional requirements and chronic disease. **Experimental**
743 **Biology and Medicine**, v. 235, p. 785-95, 2010.
744

- 745 SILVA-SANTANA G, BAX JC, FERNANDES DCS, BACELLAR DTL, HOOPER C, DIAS
746 AASO, *et al.* Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6
747 and B6D2F1 Mus musculus. **Anim Model Exp Med** n. 3, p. 304–15, 2020.
748
- 749 VALENZUELA R, BASCUÑÁN KA, CHAMORRO R, BARRERA C, SANDOVAL J,
750 PUIGRREDON C, *et al.* Modification of Docosahexaenoic Acid Composition of Milk from
751 Nursing Women Who Received Alpha Linolenic Acid from Chia Oil during Gestation and
752 Nursing. **Nutrients**, v. 7:6405–24, 2015.
753
- 754 WADHWANI, N.; PATIL, V.; JOSHI, S. Maternal long chain polyunsaturated fatty acid status
755 and pregnancy complications. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 136, p. 143-152,
756 2018.
757
- 758 WALLIN, B. *et al.* Lipoprotein oxidation and measurement of thiobarbituric acid reacting
759 substances formation in a single microtiter plate: Its use for evaluation of antioxidants.
760 **Analytical Biochemistry**, v. 208, n. 1, p. 10-15, 1993.
761
- 762 YANG, J. *et al.* Oxidative Stress and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Effects of Omega-3
763 Fatty Acid Supplementation. **Nutrients**, v. 11, n. 4, p. 872, 2019.
764
- 765 YERITSYAN N, LEHMANN K, PUK O, GRAW J, LOWEL S. Visual capabilities and cortical
766 maps in BALB/c mice. **Eur J Neurosci**, v. 36, p. 2801–11, 2012.
767
- 768 ZHAO, X. Genetic hypothesis for the developmental origins of health and disease theory.
769 **Journal of Bio-X Research**, v. 3, p. 36-43, 2020.
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794

795
796
797

ANEXO A – Atestado de aprovação provisório

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Cx.P.3037 - Lavras – MG – 37200-000 – (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

ATESTADO DE APROVAÇÃO PROVISÓRIO

(o certificado definitivo será concedido após o cumprimento de todos os critérios exigidos pela Orientação Técnica nº 5, de 27 de abril de 2015, do CONCEAMCTI)

Atestamos que a proposta intitulada "Influência do óleo de chia na modulação metabólica e inflamatória em modelos de hiperalimentação e restrição alimentar neonatal em camundongos BALB/c", protocolo nº 050/19, sob a responsabilidade de Isabela Coelho Castro, Laura Cristina Jardim Pôrto Pimenta, Estéfany Ribeiro Leão e Lylian Gabriela dos Santos, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de ensino e/ou pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas edificadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFLA, em reunião de 23/04/2020, podendo ser iniciada a realização da sua parte experimental.

Vigência da autorização: de 10/05/2020 a 30/01/2026 Finalidade: ()

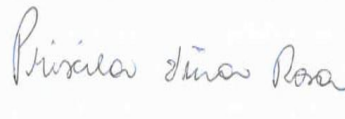
Ensino (x) Pesquisa Científica Espécie/linhagem/raça: Camundongo
isogênico / BALB/c Número de animais aprovados: 60

Peso/Idade: 30-40g / 45-55 dias Sexo:

macho e fêmea

Origem dos animais: **aguardando documentação**

Lavras, 23 de abril de 2020.



Profª. Priscila Vieira e Rosa

Presidente Interina da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa /Comissões Permanentes Campus
Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200 000 – Lavras, MG - Brasil Tel.:
+55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

798