



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

VANESSA CIBELLE BARBOZA DE CARVALHO

EFEITO DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL
EXPERIMENTAL ASSOCIADO À DIETA HIPERLIPÍDICA
NO METABOLISMO E NO COMPORTAMENTO INGESTIVO
DA PROLE DE RATAS

SÃO CRISTÓVÃO

2014

VANESSA CIBELLE BARBOZA DE CARVALHO

**EFEITO DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL
EXPERIMENTAL ASSOCIADO À DIETA
HIPERLIPÍDICA NO METABOLISMO E NO
COMPORTAMENTO INGESTIVO DA PROLE DE
RATAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Badauê Passos Junior

SÃO CRISTÓVÃO

2014

VANESSA CIBELLE BARBOZA DE CARVALHO

**EFEITO DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL
EXPERIMENTAL ASSOCIADO À DIETA
HIPERLIPÍDICA NO METABOLISMO E NO
COMPORTAMENTO INGESTIVO DA PROLE DE
RATAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Badauê Passos Junior

1º Examinador: Prof. Dra. Leandro Marques de Souza

2º Examinador: Prof. Dra. Liliane Viana Pires

AGRADECIMENTOS

E chega o final de mais uma etapa! Diante dessa situação, parei para refletir e percebi que durante todas as fases do mestrado: a decisão de tentar o processo seletivo, procura do orientador, estudar para a prova de seleção, disciplinas, projeto, coleta de dados, estatística e escrita desse trabalho, não estive sozinha, ou seja, para chegar onde estou hoje, contei com pessoas que trabalharam o tempo todo nos bastidores e/ou subiram no palco junto comigo para que eu pudesse finalizar esse projeto.

Inicialmente, agradeço a Deus, por me guiar e proteger, e proporcionar saúde, coragem e discernimento para iniciar e finalizar esse trabalho.

Aos meus pais, Fátima e Juvencio, por terem proporcionado a base educacional para chegar até aqui, pelo exemplo diário de perseverança, dedicação e, por nos fazer enxergar a importância do estudo e do conhecimento. Gostaria de agradecer, especialmente, a minha mãe, por sempre fazer com que todas as minhas conquistas sejam possíveis. Não tenho palavras para agradecer o apoio, diria incondicional, que a Senhora forneceu durante todas as etapas do processo. Com certeza, é meu exemplo, meu ponto de equilíbrio! Muito obrigada, se prepara para o doutorado! Aos meus irmãos, Bruno e Vitor, pelas brincadeiras, discussões e torcida. Essa vitória é nossa!

À minha vó, Maria Estela, exemplo de fé, amizade e ajuda ao próximo. Tenho convicção que as coisas deram certo por toda energia positiva que a Senhora envia para mim. Minha 'vóvi' fica tão feliz por cada vitória que alcanço! A Senhora é a base e, extremamente forte, dessa família. Te amo!!

Às minhas tias Socorro, Vera, Josefina, Ivanete e minha madrinha Luzia, que torcem e vibram em todas as minhas conquistas! Espero corresponder o orgulho que vocês sentem de mim! Aos meus tios(as) e primos(as) pelo esforço em entender meu projeto, perguntas, amizade e apoio. A todos os membros da Família Carvalho, muito obrigada!

Ao meu orientador, Daniel Badauê, pela oportunidade de participar da equipe do Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental (LANBAC), confiança, paciência, freios, quando necessários, ensinamentos e por entender meus questionamentos e angústias, especialmente, na reta final.

Às professoras da Nutrição, Luciana Catunda, que com suas aulas e sua linha de pesquisa, despertou meu interesse na pesquisa experimental e foi à chave para meu ingresso no Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas e a professora Elma Regina, sempre amiga e companheira, nunca deixará de ser minha mãe acadêmica!

À equipe do LANBAC, pelo auxílio na manutenção e no bom andamento dos experimentos, comemorações, gaiatices, dúvidas, enfim, pela convivência e apoio. Obrigada por participarem ativamente desse projeto, nos momentos diurnos e noturnos, com e sem energia! Aos pós-graduandos, Patrícia, Dani, Edênia, Iura e Júlio e aos alunos de iniciação, os Lanbaquitos, Loic, Érika, Francielle, Tharciane, Maurício, Timna, Saulo, Demetrius, Marília e Laís. À Camilla, eterna membro LANBAC, pela amizade e apoio. À Seu Osvaldo e Seu Adilson pela ajuda na manutenção dos animais.

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia do Processo Inflamatório, Ana Carla, Fabíula, Rangel e Betânia, sempre solícitos e receptivos aos vizinhos. Ao coordenador do laboratório, professor Enilton Camargo, pela oportunidade e liberdade de utilização do laboratório e pela contribuição científica, fundamental para o melhoramento deste trabalho.

Ao professor, João Henrique da Costa Silva, da Universidade Federal de Pernambuco, por fornecer a dieta, tornando possível a realização desse trabalho.

À professora, Andrea Ferreira Soares, do Departamento de Morfologia da UFS, pelo ensinamento da técnica histológica e apoio no processamento dos tecidos.

Aos meus colegas do Departamento de Fisiologia, Patrícia, Camilla, Edênia, Fabíula, Ana Carla, Rangel, Betânia, Kate, Lívia, Matheus e Larissa, pelas saidinhas ‘nas manhas’, conselhos, ajuda, risadas, tristezas, ‘pofits’, estudo, comemorações, enfim, vocês fizeram esse caminho mais alegre.

Aos meus colegas do Dinâmico, Samia, Débora, Margareth, Dani e Victor e, aos agregados, Diego e Rafael, por entenderem minha ausência, em alguns momentos, e pelo interesse constante no andamento da pesquisa. Aos meus colegas ‘nutris’, Gustavo, Nara, Mariane, Camilla, Cinthia e Laise que mesmo distantes, torcem por mim.

Aos meus colegas de trabalho do município de Riachuelo/Sergipe, ao pessoal da Prefeitura, pela compreensão e por proporcionar minha licença para que eu pudesse finalizar essa etapa de formação acadêmica/pessoal. Aos integrantes da Secretaria de Educação, às diretoras, em

especial Elis Regina e Adalgiza, pelo incentivo. A todos os membros da Central de Alimentação e às minhas ‘filhas’, as merendeiras, especialmente, Regina, Wdeilde, Josi, Joana, Elane, Dona Lourdes, Bidinha e Valéria que se empolgaram junto comigo com a ideia do mestrado e, principalmente, com o meu projeto. Não poderia esquecer a minha ‘mãezinha’, Tátá, sempre tão preocupada comigo e meu colega Lindinho, pelas caronas e mensagens de apoio. Obrigada a todos que, às vezes, mesmo sem querer, contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal.

À Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE) pela bolsa de estudo concedida e financiamento do projeto. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento deste projeto de pesquisa.

Durante todas as etapas do processo contei com a ajuda de várias pessoas que me animaram, me encorajaram e enviaram sua energia positiva. Esse trabalho tem um pouco de cada um de vocês! No fim, é bom saber que não estava sozinha e, melhor ainda, que alcançamos mais uma vitória!

RESUMO

EFEITO DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL ASSOCIADO À DIETA HIPERLIPÍDICA NO METABOLISMO E NO COMPORTAMENTO INGESTIVO DA PROLE DE RATAS, Vanessa Cibelle Barboza de Carvalho, São Cristóvão, 2014.

O hipotireoidismo gestacional apresenta considerável prevalência e já está devidamente documentado que a carência de hormônios tireoideanos durante a gestação gera repercussão na maturação dos sistemas fisiológicos de controle durante a vida pós-natal. Da mesma forma, inúmeras evidências apontam que o aporte nutricional inadequado durante a vida intrauterina, dependente do hábito alimentar materno, afeta o funcionamento orgânico na vida pós-natal. Assim, acredita-se que quantidade insuficiente dos hormônios tireoideanos durante a vida intrauterina associado ao estado nutricional inadequado das mães durante a gestação pode predispor, de modo particular, ao surgimento de diversas desordens neuroendócrinas, metabólicas e comportamentais ao longo da vida pós-natal. O objetivo do presente estudo foi avaliar os aspectos metabólicos e o comportamento ingestivo da prole de ratas induzidas ao hipotireoidismo associado à dieta hiperlipídica durante a gestação. A partir do 3º dia de gestação (DG) as ratas prenhas receberam dieta hiperlipídica e, a partir do 9º DG, iniciou-se, também, a indução do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) adicionando metimazol 0,02% na água de beber. Tanto a dieta quanto a indução ao hipotireoidismo foram interrompidos no dia do parto. Nas ratas prenhas foi realizado o acompanhamento da massa corporal e da ingestão alimentar do 3º DG ao 20º DG. Na prole foram avaliados a massa corporal e o comprimento da cauda, semanalmente, do 1º dia pós-natal (DPN) aos 120º DPN e, aos 60 PDN, realizaram-se o teste de tolerância à insulina (TTI), o teste de tolerância à glicose (TTG), dosagens bioquímicas e o peso relativo dos órgãos, em ambos os sexos. Além disso, foram investigados o comportamento ingestivo de ração, água e NaCl 0,3 M somente nos machos da prole aos 30, 60, 90 e 120 DPN. Os dados foram submetidos à ANOVA de duas ou três vias, e em seguida ao pós-teste de Bonferroni. Os machos da prole de ratas submetidas à associação do hipotireoidismo com a dieta hiperlipídica (PRH + DH) maior hematócrito e maiores concentrações de triglicérides, colesterol e ureia quando comparados aos machos da prole de ratas hipotireoideanas com dieta controle (PRH + DC). As fêmeas da PRH + DH apresentaram maior sensibilidade à glicose, aos 30 minutos, no teste de tolerância à glicose, quando comparadas as fêmeas da PRH + DC ($p < 0,05$) e as fêmeas da prole de ratas eutireoideanas com dieta hiperlipídica (PRE + DH) ($p < 0,01$), entretanto não foram encontradas diferenças, nas fêmeas dos grupos estudados, na glicemia de jejum e no teste de tolerância à insulina. O HGE associado à dieta hiperlipídica, exclusivamente durante a gestação, está associado a déficit no desenvolvimento corporal e dislipidemia na vida pós-natal dos machos dessa prole, enquanto as fêmeas apresentam maior sensibilidade à glicose. Assim, esses dados mostram, pela primeira vez, que a associação do HGE com a dieta hiperlipídica promove alteração no perfil metabólico da prole e demonstra que alterações no ambiente intrauterino pode ser a causa de diversas doenças metabólicas que, atualmente, não apresentam uma causa definida.

Palavras chave: hipotireoidismo congênito, dieta hiperlipídica, programação fetal, ingestão alimentar, metabolismo.

ABSTRACT

EFFECTS OF EXPERIMENTAL GESTATIONAL HYPOTHYROIDISM IN ASSOCIATION WITH HIGH FAT DIET DURING GESTATION ON THE METABOLISM AND INGESTIVE BEHAVIOR OF OFFSPRING RATS. Vanessa Cibelle Barboza de Carvalho, São Cristóvão, 2014.

Gestational hypothyroidism is considerably prevalent. Low maternal thyroid hormones (THs) levels during pregnancy may affect several physiological systems in the offspring. Similarly, an inadequate maternal nutrition during pregnancy is implicated as the origin of many metabolic and cardiovascular diseases in the offspring. Therefore, gestational hypothyroidism, in addition to an inadequate maternal nutrition could trigger an even worse profile in the neuroendocrine, metabolic and feeding behavior throughout postnatal life of the offspring. The aim of this study was to assess metabolic aspects and ingestive behavior of the offspring of rats treated with high fat diet (HD) during gestation associated with experimental gestational hypothyroidism (EGH). On gestational day (GD) 3, we started to feed pregnant rats with the HD, and on GD 9, we started to induce EGH with 0.02% methimazole in drinking water, *ad libitum*. HD and EGH were only interrupted on the day of birth. The pregnant rats were weighted and monitored for the amount of food and water ingested from GD 3 up to GD 20. In the offspring, body development indexes were measured from postnatal day (PND) 1 up to PND 120. At PND 60, we performed the insulin tolerance test (ITT), glucose tolerance test (GTT), biochemical measurements, in both genders. Furthermore, food, water and 0.3 M NaCl ingestive behaviors were measured in male offspring at PND 30, 60, 90 and 120. Data were analyzed by two- or three-way ANOVAs with Bonferroni posttest. Male offspring from hypothyroid rats submitted to HD (OHT + HD) showed higher hematocrit, triglycerides, cholesterol and urea sera levels when compared to male offspring from hypothyroid rats submitted to control diet (OHT + CD). Moreover, female OHT + HD had higher glucose sensitivity at 30 minutes on the GTT when compared to OHT + CD ($p < 0.05$) and also to offspring from euthyroid rats (OET) + HD ($p < 0.01$). However, we observed no differences in fasting glycemia and ITT in female offspring from different groups. In conclusion, the association of EGH and HD during gestation caused a significant deficit in body development and dyslipidemia in male offspring, whereas female offspring exhibit higher glucose sensitivity. Thus, this data show, for the first time, how the association between low maternal THs with HD predict an abnormal metabolic profile in offspring, and give us an insert about the origin of several unknown metabolic diseases.

Keywords: Congenital hypothyroidism, high fat diet, fetal programming, feeding, metabolism.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ingredientes utilizados nas dietas	19
Tabela 2. Composição centesimal das dietas.....	20
Tabela 3. Distribuição dos ácidos graxos das dietas.....	20
Tabela 4. Contribuição energética dos macronutrientes em relação à energia total.....	20
Tabela 5. Descrição dos tratamentos submetidos às ratas prenhas.....	21
Tabela 6. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na ingestão cumulativa de energia e dos macronutrientes das ratas prenhas do terceiro ao vigésimo dia de gestação	30
Tabela 7. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no tempo de gestação, número de filhotes e de natimortos por rata.....	31
Tabela 8. Descrição das médias da massa corporal do 44º ao 120º DPN dos machos da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH) e da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH)	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntese dos hormônios tireoideanos.....	6
Figura 2. Regulação da síntese e secreção dos hormônios tireoideanos	8
Figura 3. Procedimento experimental nas ratas prenhas (Painel A) e na prole (Painel B).....	26
Figura 4. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na massa corporal ao longo da gestação (Painel A) e no ganho de massa corporal do 3° ao 20° DG (Painel B)	27
Figura 5. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na ingestão de ração e água em 24h (Painéis A e C) e na ingestão cumulativa de ração e água do 3° ao 20° DG (Painéis B e D).....	29
Figura 6. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na massa corporal da prole	33
Figura 7. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no comprimento da cauda da prole.....	36
Figura 8. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na idade de abertura ocular da prole.....	37
Figura 9. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na ingestão induzida de leite aos 5 DPN (Painel A) e 15 DPN (Painel B) na prole.....	38
Figura 10. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na massa corporal (Painel A) e na ingestão espontânea de ração (Painel B), água (Painel C) e NaCl 0,3 M (Painel D) nos machos da prole.....	39
Figura 11. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no teste de tolerância à insulina aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B)	40
Figura 12. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no teste de tolerância à glicose aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).	41
Figura 13. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na concentração de glicose sérica aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B)	42
Figura 14. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no triglicérides sérico aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B)	43

Figura 15. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no colesterol sérico aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).....	44
Figura 16. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no HDL sérico aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).....	45
Figura 17. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na ureia sérica aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).....	46
Figura 18. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no hematócrito aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).....	47
Figura 19. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso do coração normalizado pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B)	48
Figura 20. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso do fígado normalizado pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).	48
Figura 21. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso da gordura retroperitoneal normalizada pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).....	49
Figura 22. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso dos rins normalizado pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).	50
Figura 23. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso do pulmão normalizado pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B).	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
BAT	Tecido adiposo marrom
D1	Desiodase do tipo 1
D2	Desiodase do tipo 2
D3	Desiodase do tipo 3
DC	Dieta controle
DG	Dia de gestação
DH	Dieta hiperlipídica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPN	Dia pós-natal
GH	Hormônio do crescimento
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HGE	Hipotireoidismo gestacional experimental
HMG-CoA	Hidroxi-3metilglutaril-CoA
HTs	Hormônios tireoideanos
IMC	Índice de massa coporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MTZ	Metimazol
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar

PRDC	Prole de ratas submetidas à dieta controle
PRDH	Prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica
PRE	Prole de ratas eutireoideanas
PRE + DC	Prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle
PRE + DH	Prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica
PRH	Prole de ratas hipotireoideanas
PRH + DC	Prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle
PRH + DH	Prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica
PTU	Propiltiouracil
RDC	Ratas submetidas à dieta controle
RDH	Ratas submetidas à dieta hiperlipídica
RE	Ratas eutireoideanas
RE + DC	Ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle
RE + DH	Ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica
RH	Ratas hipotireoideanas
RH + DC	Ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle
RH + DH	Ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica
RNA m	Ácido ribonucleico mensageiro
rT3	Triiodotironina reverso
SNS	Sistema nervoso simpático
SREBP	Proteína de ligação ao elemento de resposta ao esterol
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TBG	Globulina transportadora da tiroxina

TRH	Hormônio liberador de tireotropina
TRs	Receptores tireoideanos
TSH	Hormônio tireoestimulante
TTG	Teste de tolerância à glicose
TTI	Teste de tolerância à insulina
UCP	Proteína desacopladora
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFS	Universidade Federal de Sergipe

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 CONSUMO ALIMENTAR E PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA.....	3
2.2 HORMÔNIOS TIREOIDEANOS (HTs).....	4
2.4 DESIODASES	8
2.5 FUNÇÃO TIREOIDEANA NA GESTAÇÃO.....	9
2.6 HORMÔNIOS TIREOIDEANOS E METABOLISMO	11
2.6.1 Termogênese	11
2.6.2 Metabolismo lipídico.....	12
2.6.3 Balanço energético	13
3 OBJETIVOS	16
3.1 OBJETIVO GERAL	16
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
4 MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1 ANIMAIS UTILIZADOS	17
4.2 ASPECTOS ÉTICOS	18
4.3 ACASALAMENTO.....	18
4.4 DIETAS	18
4.5 DROGA UTILIZADA	20
4.6 DURAÇÃO DA GESTAÇÃO E ÍNDICE REPRODUTIVO.....	21
4.7 MEDIDAS E ÍNDICES CORPORAIS	21
4.7.1 Massa corporal	21
4.7.2 Comprimento da cauda.....	21
4.7.3 Relação peso do órgão/comprimento da tíbia	22
4.8 COMPORTAMENTO DE INGESTÃO	22
4.8.1 Medidas da ingestão alimentar e de água das ratas prenhas	22
4.8.2 Estimativa da ingestão induzida de leite materno	22
4.8.3 Comportamento da ingestão espontânea de ração, água e sódio (NaCl 0,3 M) da prole.....	23

4.9 IDADE DE ABERTURA OCULAR.....	23
4.10 COLETA DO MATERIAL	23
4.11 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS	24
4.11.1 Perfil lipídico.....	24
4.11.2 Glicemia	24
4.11.3 Teste de tolerância à insulina intraperitoneal (TTI)	24
4.11.4 Teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTG).....	24
4.11.5 Ureia sérica.....	24
4.11.6 Hematócrito.....	25
4.12 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	25
4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
5 RESULTADOS	27
5.1 RATAS PRENHAS.....	27
5.2 PROLE	31
6 DISCUSSÃO	51
7 CONCLUSÃO.....	63
8 REFERÊNCIAS	64
ANEXO A.....	80

1 INTRODUÇÃO

Recentes abordagens experimentais têm demonstrado que eventos ocorridos durante a vida intrauterina são decisivos no aparecimento de diversas doenças ao longo da vida pós-natal (MCMILLEN; ROBINSON, 2005; ENTRINGER et al., 2011). Assim, distúrbios no suprimento de nutrientes, oxigênio e hormônios durante a gestação, bem como a duração do insulto podem comprometer o desenvolvimento do feto e gerar consequências na vida adulta (FOWDEN et al., 2006; KANAKA-GANTENBEIN, 2010).

Os hormônios tireoideanos (HTs) possuem ações fisiológicas essenciais na modulação do metabolismo e, variações na concentração destes hormônios produzem alterações morfológicas e funcionais no sistema biológico (SILVA, 2006; PASCUAL; ARANDA, 2013). Dessa forma, a integração dos efeitos mediados pelos HTs permite alterações metabólicas necessárias para o adequado desenvolvimento tecidual, especialmente durante a vida intrauterina (SMITH et al., 2002).

A gestação compreende um período de complexas mudanças hormonais, de modo que o funcionamento adequado da glândula tireoide materna é essencial para garantir o aporte dos HTs ao feto, em especial no primeiro trimestre da gestação (KRAJEWSKI; BURMAN, 2011). As disfunções tireoidianas ocorrem em cerca de 10% das mulheres gestantes e a prevalência de hipotireoidismo durante a gestação é descrita variando entre 0,3 e 2,2% em diferentes estudos (KLEIN et al., 1991; GLINOER, 1998; ALLAN et al., 2000; LAZARUS, 2005).

Assim, o hipotireoidismo durante a gestação está associado a efeitos adversos tanto para a saúde materna, com o desenvolvimento de pré-eclâmpsia, descolamento de placenta, perda do feto, como para a saúde fetal, prematuridade, baixo peso ao nascer, além de retardo mental, deficiência motora, letargia e metabolismo lento que caracterizam o hipotireoidismo congênito (MACNABB et al., 1999; CASEY et al., 2005; IDRIS et al., 2005).

A ingestão alimentar e a qualidade da dieta materna estão diretamente relacionados ao aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis na gestação e estas, podem permanecer durante todo o período gestacional e pós-parto (COLDITZ et al., 1992; KIM; DEBATE; DALEY, 2013; HALPERIN; FEIG, 2014). Diversos estudos demonstram que modificações dietéticas maternas, tais como dieta hiperlipídica, hipoproteica ou com restrição de

micronutrientes específicos estão associadas a desordens metabólicas como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e hipertensão ao longo da vida pós-natal (GUO; JEN, 1995; GNIULI et al., 2008; HARTIL et al., 2009; SYMONDS et al., 2012; RAMADAN; ALSHIRAIHI; AL-KARIM, 2013).

Ademais, balanço energético positivo decorrente do consumo de alimentos hipercalóricos, por exemplo, está associado com alterações na secreção hormonal de leptina, hormônios tireoideanos, entre outros (ARAUJO; CARVALHO, 2011). No estudo de Araujo et al. (2010), no qual ratos foram alimentados com dieta hiperlipídica, notou-se uma hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide destes animais, entretanto não foi observada diferença na concentração de T3 e T4 e os autores sugerem que há uma modulação tecido-específico no metabolismo dos hormônios tireoideanos periféricamente.

Assim, este estudo avaliou as repercussões do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) associado à dieta hiperlipídica, durante a gestação, na função metabólica e no comportamento de ingestão alimentar, de sódio e água na vida pós-natal da prole de ratas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CONSUMO ALIMENTAR E PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA

O padrão alimentar atual caracteriza-se por alimentos hipercalóricos, de alta palatabilidade, com teor elevado de carboidratos refinados e gorduras saturadas e/ou trans, além de baixo teor de vitaminas e minerais (FRANCISCHI et al., 2000).

No Brasil, observa-se crescente prevalência de doenças crônicas não transmissíveis em todas as faixas etárias, associado a um aumento na ingestão de lipídeos totais e de ácidos graxos saturados (BRASIL, 2004; BRASIL, 2011). O consumo de dieta hiperlipídica pode estar associado a efeitos deletérios a saúde em virtude do aumento do risco do aparecimento da obesidade e dos diversos transtornos metabólicos associados a ela, como diabetes mellitus tipo 2, resistência à insulina, doenças cardiovasculares, síndrome metabólica, problemas respiratórios, problemas gastrointestinais, entre outros (MUST A et al., 1999; LOBSTEIN; BAUR; UAUY, 2004; HAIDAR; COSMAN, 2011).

O mesmo padrão dietético é adotado por mulheres em idade fértil e gestantes (AZEVEDO; SAMPAIO, 2003; BLUMFIELD et al., 2012) e tem-se questionado sobre os efeitos dessa modificação dietética na saúde materna e do feto e, as consequências na vida pós-natal. Assim, tem crescido o número de estudos utilizando-se dieta hiperlipídica durante o período gestacional e/ou na lactação com o objetivo de mimetizar o hábito alimentar da população e buscar respostas para as causas das doenças encontradas atualmente (BECK et al., 2006; AKYOL; LANGLEY-EVANS; MCMULLEN, 2009; ELAHI et al., 2009; DONG et al., 2013).

As condições intrauterinas as quais o feto se desenvolve são de fundamental importância para o seu adequado crescimento e desenvolvimento. Diversos estudos têm observado que distúrbios durante a gestação tais como alterações hormonais e nutricionais podem predispor alterações na vida pós-natal a curto e longo prazo (BARKER et al., 1993; (FÉRÉZOU-VIALA et al., 2007).

A vida intrauterina é considerada um período crítico no qual alterações neste ambiente podem predispor o indivíduo a modificações morfológicas e fisiológicas com o objetivo de se adequar as novas condições, fator definido como plasticidade (WEST-EBERHARD, 1989; BARKER, 2006). Assim, devido a esta adaptabilidade durante a vida

fetal, pode-se gerar alterações permanentes no metabolismo e no funcionamento do organismo, fenômeno denominado programação fetal (BARKER et al., 1993).

A programação fetal, também conhecida como hipótese de Barker, foi proposta após observações epidemiológicas que associaram baixo peso ao nascer e maior risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, sendo que estes fatores de risco poderiam estar relacionados à vida intrauterina e, como consequência ao estado nutricional materno (BARKER et al., 1989; BARKER et al., 1993; BARKER, 1995). A partir desses achados surgiram vários modelos experimentais associados à restrição proteica ou de vitaminas, dietas hipercalóricas/hiperlipídicas, estresse e tratamentos hormonais induzidos nas mães, nos quais foram observadas alterações cardiovasculares, resistência à insulina, diabetes e síndrome metabólica na prole (GUO; JEN, 1995; LAGISHETTY et al., 2007; CHANG et al., 2008; ENTRINGER et al., 2011; RAMADAN; ALSHIRAIHI; AL-KARIM, 2013).

No estudo de Araujo et al. (2010), observou-se hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide de ratos alimentados com dieta hiperlipídica, entretanto não foi observada diferença na concentração de T3 e T4. Suter et al. (2012), avaliaram um modelo de programação fetal no qual macacas prenhas receberam dieta hiperlipídica, e observaram alteração no eixo tireoide do feto. Ademais, já se tem conhecimento que o hipotireoidismo está associado à diminuição da ingestão alimentar e do efeito térmico do alimento, enquanto que no hipertireoidismo ocorre o inverso, ou seja, aumento na ingestão alimentar e no efeito térmico do alimento (KROTKIEWSKI, 2002).

2.2 HORMÔNIOS TIREOIDEANOS (HTs)

A glândula tireoide é composta por folículos e cada folículo tireoideano consiste em uma única camada de células epiteliais, organizadas ao redor de um lúmen preenchido por coloide constituído principalmente por tireoglobulina (AHMED et al., 2008). Cada molécula de tireoglobulina contém aminoácidos tirosina em sua composição, sendo esta a base dos HTs (DUNN; DUNN, 2001).

A presença de iodo é essencial para a síntese desses hormônios (ZIMMERMANN; JOOSTE; PANDAV, 2008). O iodeto proveniente da ingestão alimentar é absorvido no trato gastrointestinal e transportado para a corrente sanguínea onde é captado para o interior da glândula tireoide, através da membrana basolateral dos tireócitos (BURMAN;

WARTOFSKY, 2000), e difunde-se para a membrana apical da célula, onde é oxidado para iodo por meio da enzima tireoperoxidase na presença de peróxido de hidrogênio (ORIHUELA, 2011). A tireoperoxidase é responsável pela catálise da incorporação do iodo aos resíduos tirosina formando as monoiodotirosina e diiodotirosina e pela ligação das moléculas de iodotirosina na tireoglobulina, a qual determinará a formação dos HTs (MCMULLEN; DELBRIDGE, 2009).

Quando há o estímulo para produção dos HTs, pequenas porções do coloide são englobadas formando vesículas que penetram no ápice da célula pelo processo de pinocitose (BIZHANOVA; KOPP, 2009). As vesículas se fundem com os lisossomos citoplasmáticos e as enzimas proteolíticas digerem as moléculas de tireoglobulina causando a liberação de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) (MANSOURIAN, 2011). Uma parte dos HTs é reciclada para produção de iodo e tirosina e outra se difunde através da superfície basal para a circulação onde se ligam a proteínas plasmáticas (CAMPBELL, 2005). A tireoide secreta predominantemente T4, considerado pro-hormônio, visto que a maior parte do T4 é convertida a T3, forma ativa do hormônio, por meio das iodotironinas desidases nos tecidos (STATHATOS, 2012). Na Figura 1 encontra-se, de forma resumida, as etapas da síntese dos HTs.

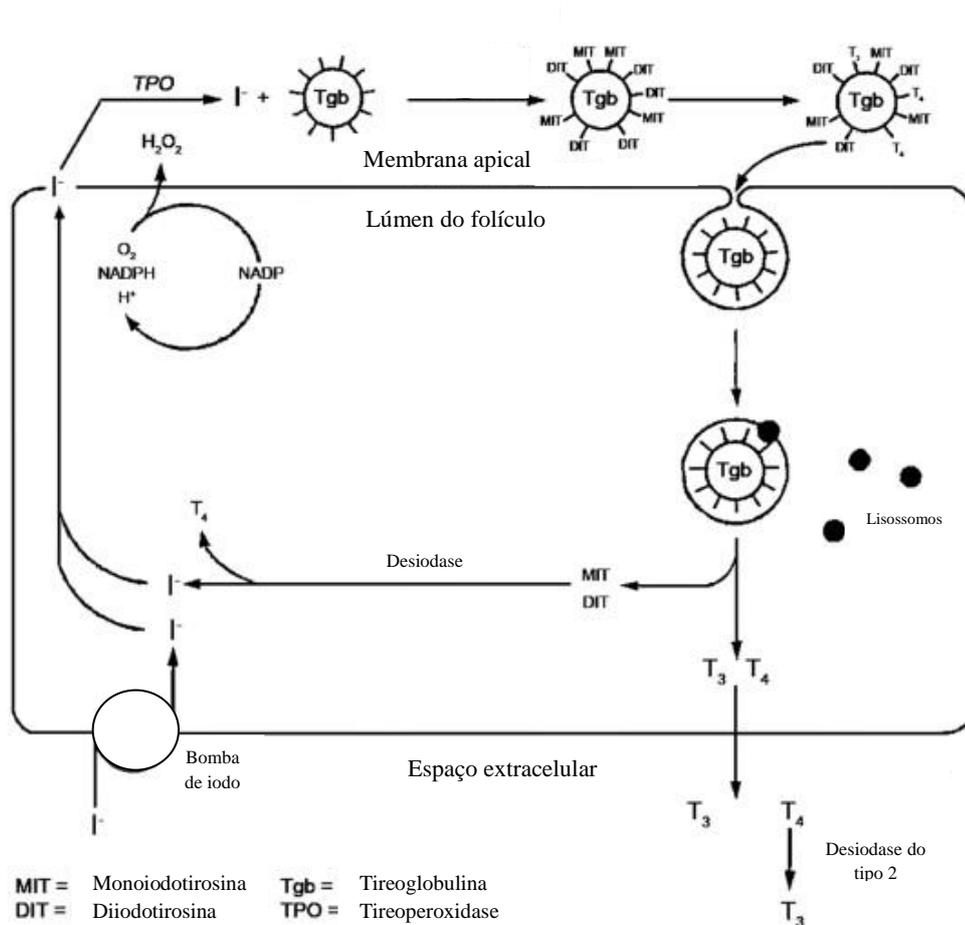


Figura 1. Biossíntese dos hormônios tireoideanos. Modificado de Sosvorová et al. (2012).

Os HTs exercem ação no núcleo celular através da regulação da taxa de transcrição de genes que participam de vários processos fisiológicos. Para que os HTs exerçam suas ações genômicas são necessários receptores nucleares (BASSETT; HARVEY; WILLIAMS, 2003). Os receptores nucleares são uma grande família que incluem os receptores para esteróides, vitamina D, retinóides, hormônios tireoideanos, prostaglandinas e receptores órfãos, cujos ligantes são desconhecidos (MUNOZ; BERNAL, 1997). Assim, os receptores tireoideanos (TRs) promovem ou inibem a transcrição de genes responsivos aos HTs.

Os TRs são fatores de transcrição dependentes de ligante codificados por dois genes diferentes α e β (THOMPSON; EVANS, 1989; FLAMANT; SAMARUT, 2003). Cada um destes genes codificam várias proteínas (TR α 1, TR α 2, TR β 1, TR β 2, TR β 3) que são resultado do processamento alternativo do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) (splicing) (MUNOZ; BERNAL, 1997), sendo que o TR α 2 é o único que não tem capacidade de ligar-se ao hormônio e ao sítio de ligação no ácido desoxirribonucleico (DNA), assim, atua como

antagonista da transcrição gênica mediada pelos outros TRs (LAZAR; HODIN; CHIN, 1989; DUPRÉ et al., 2004).

Os HTs participam ativamente de vários processos como, por exemplo, no crescimento, pois podem atuar no gene do hormônio do crescimento; podem influenciar a velocidade de contração dos músculos cardíaco e esquelético, pois atuam nos genes da isoforma α da cadeia pesada da miosina e da cadeia pesada da miosina do tipo II (NUNES, 2003).

Além de ações genômicas, os HTs também exercem atividade independente dos receptores nucleares denominadas de ações não-genômicas (DAVIS; LEONARD; DAVIS, 2008). Este mecanismo dos HTs já foi descrito na membrana plasmática, no citoplasma e em organelas e, incluem a modulação do transporte de sódio, potássio, cálcio e glicose, ativação de proteínas quinases, regulação da termogênese, da atividade lipolítica, entre outros (KAVOK; KRASILNIKOVA; BABENKO, 2001; DE JESUS et al., 2001).

A síntese e secreção dos HTs é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. O hormônio liberador de tireotropina (TRH), armazenado na eminência mediana do hipotálamo, é liberado quando os neurônios localizados nos núcleos paraventriculares do hipotálamo são estimulados (CHIAMOLERA; WONDISFORD, 2009). O TRH é transportado através do sistema venoso porta hipotalâmico-hipofisário até a hipófise anterior, onde controla a síntese e regulação do hormônio tireoestimulante (TSH) ou tireotrofina (BOELAERT; FRANKLYN, 2005).

O TSH, por sua vez, é uma glicoproteína sintetizada e secretada pelos tireotrofos (células da hipófise anterior), considerado fator primário no controle do crescimento das células da tireoide e na síntese e secreção do hormônio tireoidiano, pois atua aumentando a captação de iodo, síntese e captação de tireoglobulina pelas células foliculares e a liberação de T3 e T4 (CAMPBELL, 2005). Os hormônios tireoidianos exercem um *feedback* negativo na secreção de TSH pela hipófise anterior e TRH pelo hipotálamo, com isso, há manutenção dos níveis circulantes desses hormônios (STATHATOS, 2012).

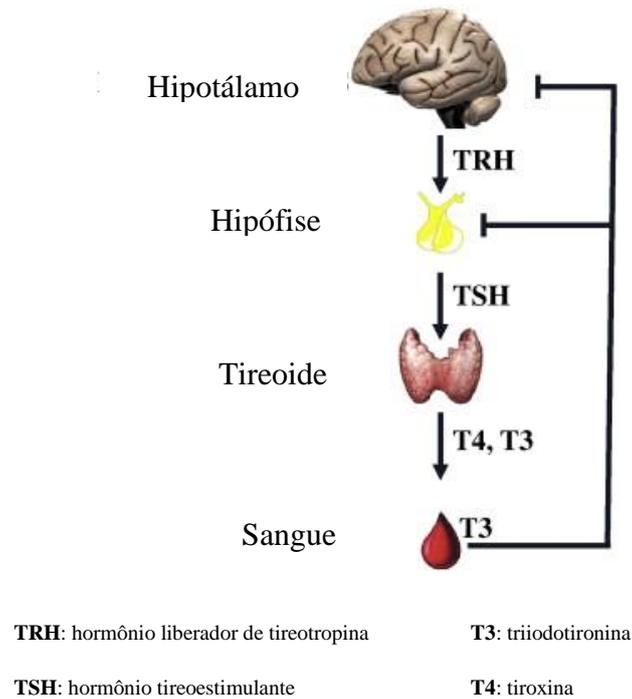


Figura 2. Regulação da síntese e secreção dos hormônios tireoideanos. Modificado de Sirakov; Plateroti (2011).

2.4 DESIODASES

A regulação da atividade dos HTs, nos tecidos, é realizada pelas iodotironinas desiodases através da remoção de uma molécula de iodo da tiroxina e seus derivados causando a ativação ou desativação dos HTs (BIANCO; KIM, 2006). São constituídas por 3 enzimas: iodotironinas desiodases do tipo 1 (D1), do tipo 2 (D2) e do tipo 3 (D3) (KÖHRLE, 2007) que possuem características distintas baseada na distribuição tecidual, substrato, cinética, sensibilidade a inibidores e resposta a concentração dos hormônios tireoideanos (KÖHRLE et al., 2005; BIANCO; LARSEN, 2005).

A D1 possui capacidade de regular a desiodação dos anéis externo e interno, com isso pode haver aumento dos metabólitos de T4 ativo (T3) ou inativo (T3 reverso – rT3), respectivamente (GEREBEN et al., 2008b). Localiza-se na membrana plasmática sugerindo como função principal, nos tecidos periféricos, a manutenção dos níveis de T3 no plasma (BAQUI et al., 2000). Em humanos e ratos, encontra-se na hipófise, tireoide, fígado e rins (GERMAIN; GALTON; HERNANDEZ, 2009). A D1 apresenta atividade aumentada no hipertireoidismo e diminuída no hipotireoidismo, sendo bloqueada pelo uso de propiltiouracil

(PTU) (GEREBEN et al., 2008a), um composto antitireoidiano que inibe a atividade da tireoperoxidase e, por conseguinte, a biossíntese dos hormônios tireoideanos.

A D2 catalisa exclusivamente a desiodação do anel externo (BIANCO et al., 2002) e está localizada no retículo endoplasmático, como consequência a regulação tecido-específica de D2 está relacionada à estimulação ou inibição da transcrição de genes alvo por T3 (BAQUI et al., 2000). Essa enzima é encontrada, em humanos, no cérebro, hipófise, tireoide, tecido adiposo marrom e músculo (GERMAIN; GALTON; HERNANDEZ, 2009). A D2 tem sua atividade elevada no hipotireoidismo e diminuída no hipertireoidismo, sendo insensível ao PTU (SILVA; LARSEN, 1985).

A D3 catalisa, somente, a desiodação do anel interno resultando na inativação de T4 para rT3 ou na conversão de T3 em diiodotironina (T2) (BAQUI et al., 2003). Localiza-se na membrana plasmática e acredita-se que o papel dessa enzima é proteger os tecidos de níveis inadequadamente altos dos HTs (DENTICE; SALVATORE, 2011). Em humanos, é encontrada em tecidos em desenvolvimento e placenta, além de pele e cérebro (TU et al., 1999). Na placenta, a D3 tem papel fundamental na prevenção da exposição prematura dos tecidos fetais a níveis inadequados dos HTs, pois regulam a transferência do hormônio materno ao feto (SALVATORE et al., 1995). A D3 apresenta sua atividade aumentada no hipertireoidismo, diminuída no hipotireoidismo e não é sensível a PTU (CROTEAU et al., 1995; LECHAN; FEKETE, 2005).

Dessa forma, a conversão de T4 a T3 ocorre através da retirada do iodo na posição 5' do anel fenólico ou desiodação do anel externo e é catalisada por D1 e D2. A retirada do iodo da posição 5 do anel tirosil ou desiodação do anel interno, catalisada por D1 e D3, resulta na inativação de T4 e T3 gerando 3, 5', 3' – triiodotironina (rT3) e 3, 3'- diiodotironina (T2), respectivamente (BIANCO et al., 2002). Ademais, alteração na expressão das desidases ou polimorfismo nos genes que expressam essas proteínas parece ser uma das possíveis causas para à síndrome das doenças não tireoideanas, caracterizada por alteração na concentração dos HTs em diversas condições fisiopatológicas (GEREBEN et al., 2008b; DENTICE; SALVATORE, 2011).

2.5 FUNÇÃO TIREOIDEANA NA GESTAÇÃO

A gestação induz alterações funcionais na glândula tireoide interferindo, assim, na fisiologia tireoideana por diversas vias. Durante a primeira metade da gestação até o termo há

o aumento da concentração da globulina transportadora da tiroxina (TBG) decorrente dos níveis elevados de estrógeno que aumenta a síntese hepática e diminui a depuração da TBG (GLINOER, 1997). Como consequência, os níveis de T3 e T4 total aumentam durante a gestação com tendência a situar-se no limite superior da normalidade (HOTELLING; SHERWOOD, 1971). Em contrapartida ao aumento de T3 e T4 totais durante a gestação há diminuição da fração livre dos HTs resultando na ativação do eixo hipotálamo-hipófise e consequente aumento do TSH circulante (VIEIRA et al., 2004).

Entre a 8^a e a 14^a semana de gestação há diminuição transitória no TSH sérico que coincide com o pico na concentração de gonadotrofina coriônica humana (hCG) resultante da estimulação direta da tireoide materna pelo hCG que é acompanhada pela inibição parcial do eixo hipófise-tireoide (COSTA et al., 2004).

A relação feto-placentária causa alteração no metabolismo periférico dos hormônios tireoideanos maternos devido à expressão de D2 que pode representar um mecanismo para manutenção de T3 local e de D3 pela placenta (PATEL et al., 2011). Além disso, por meio da circulação placentária, o feto recebe o iodo e o T4 materno durante todo o período gestacional (BEARDSALL; OGILVY-STUART, 2004). O T4 materno é particularmente importante no primeiro trimestre de gestação, pois é essencial no desenvolvimento e maturação do sistema nervoso central e, nesta fase, o feto ainda não apresenta a capacidade de sintetizá-lo (POP et al., 1999).

Deficiência no funcionamento da glândula tireoide e diminuição dos níveis circulantes dos hormônios tireoideanos maternos, principalmente no primeiro trimestre de gestação, estão associados a prejuízo intelectual durante a infância e complicações durante a gestação como prematuridade, descolamento de placenta e morte fetal (SU et al., 2011). Alterações tireoidianas são frequentemente encontradas em gestantes (BLAZER et al., 2003), dentre elas destaca-se o hipotireoidismo materno que está associado à consequências para a gestante e o feto, durante e após a gestação (MONTORO, 1997).

O hipotireoidismo apresenta sintomas característicos, elevação dos níveis de TSH e diminuição dos hormônios tireoideanos, com prevalência de 0,3 a 2,2% nas gestantes (KLEIN et al., 1991; ALLAN et al., 2000). Já o hipotireoidismo subclínico manifesta-se com pouco ou nenhum sintoma e caracteriza-se pelo aumento de TSH e taxas normais dos hormônios tireoideanos, enquanto houver tecido tireoideano responsivo, e ocorre em aproximadamente 3% das gestantes (VAIDYA et al., 2007). Assim, faz-se necessário o rastreamento do

hipotireoidismo ou hipotireoidismo subclínico nas gestantes com o objetivo de evitar riscos a saúde materna e fetal (GLINOER, 1998; LAZARUS, 2011).

2.6 HORMÔNIOS TIREOIDEANOS E METABOLISMO

Os HTs exercem inúmeras ações biológicas em diferentes tecidos atuando no metabolismo energético, no metabolismo de nutrientes e íons inorgânicos, na termogênese e no crescimento e desenvolvimento de vários tecidos (BIANCO; LARSEN, 2005; REINEHR et al., 2008; MARWAHA et al., 2011).

2.6.1 Termogênese

Os animais homeotérmicos possuem a capacidade de manter a temperatura corporal relativamente constante e este é um parâmetro fisiológico importante para a homeostasia (SILVA, 2006). A produção de calor nos animais pode ser dividida em duas categorias: termogênese obrigatória e termogênese facultativa. A primeira, também conhecida como taxa de metabolismo basal, é o somatório do calor produzido no organismo em temperatura ambiente e representa o gasto energético mínimo necessário a sobrevivência. Entretanto, a quantidade de calor liberada pelo organismo pode aumentar em resposta a queda da temperatura ambiente, aumento da ingestão alimentar ou com a prática de atividade física, o calor liberado nessas condições é denominado termogênese facultativa (BIANCO, 2000; RIBEIRO et al., 2001; KROTKIEWSKI, 2002).

Os HTs aumentam o metabolismo basal por meio de processos que envolvem a síntese e a hidrólise de adenosina trifosfato (ATP) (turnover de ATP) e consequente liberação de calor (CURCIO et al., 1999). Alguns dos mecanismos incluem ciclos iônicos e de substratos, por exemplo, aumento da permeabilidade da membrana celular ao sódio e ao potássio com isso a bomba de sódio-potássio despende mais energia para manter o gradiente, etapas da glicólise; ciclos metabólicos como o ciclo de Cori, glicogenólise/glicogênese, lipólise/lipogênese (SILVA, 2006); contração e relaxamento muscular do trabalho muscular basal, particularmente os batimentos cardíacos, movimentos respiratórios, peristaltismo, entre outras (BIANCO, 2000).

O tecido adiposo marrom (BAT) constitui o principal sítio de termogênese facultativa em pequenos mamíferos e em fetos e recém-nascidos humanos (CHRISTOFFOLETE et al., 2004). Em humanos adultos, o músculo esquelético é o principal

responsável pelo efeito termogênico. O papel do BAT na termogênese baseia-se na expressão da proteína desacopladora 1 (UCP-1) que acelera o retorno de prótons para a matriz mitocondrial e, com isso, a maior parte da energia proveniente da oxidação dos substratos energéticos perde-se na forma de calor (ADAMS, 2000). O funcionamento desse tecido é regulado pela norepinefrina, liberada pelos terminais simpáticos presente nesse tecido em resposta ao frio ou à ingestão alimentar (CASTILLO et al., 2011), mas também pode ser influenciado por outros hormônios ou fatores metabólicos.

O BAT apresenta receptores de T3 e atividade de D2 local (BIANCO; SILVA, 1987). Nesse tecido, tanto a norepinefrina quanto o T3 atuam estimulando a expressão da UCP-1. Ademais, a norepinefrina atua, também, estimulando a expressão da D2. Assim, a ação do T3 é potencializada, uma vez que a D2 aumenta os níveis teciduais desse hormônio, e, conseqüentemente, o estímulo para transcrição da UCP-1 (BRANCO et al., 1999). Além disso, o T3 também estimula a lipogênese local contribuindo para o restabelecimento dos estoques teciduais de gordura, pois nas primeiras horas de ativação simpática no BAT ocorre predomínio da lipólise (BIANCO, 2000).

No hipotireoidismo, o BAT é altamente estimulado, mas é menos responsivo devido à carência dos HTs, enquanto que no hipertireoidismo o BAT será subestimulado, esse efeito será agravado devido à redução na atividade da D2 resultante da diminuição da atividade simpática e do excesso de T4 (SILVA, 2001).

2.6.2 Metabolismo lipídico

Os HTs desempenham um papel importante na síntese, metabolismo e mobilização dos lipídeos (MARWAHA et al., 2011). A lipogênese consiste na síntese de ácidos graxos esterificados, os quais formam os triglicerídeos e, ocorre tanto no tecido adiposo quanto no fígado. O efeito dos HTs na lipogênese deve-se ao aumento da expressão de genes que codificam enzimas lipogênicas, tais como ácido graxo sintase e acetil CoA carboxilase (MIKSICEK; TOWLE, 1982). No hipertireoidismo e no hipotireoidismo aumenta e diminui, respectivamente, a lipogênese no tecido adiposo branco (DIAMANT; GORIN; SHAFRIR, 1972).

O processo de lipólise consiste na liberação de ácidos graxos a partir de triglicerídeos armazenados no tecido adiposo e tem como objetivo oferecer substrato para outros tecidos em caso de necessidade energética. Hormônios como insulina e catecolaminas atuam na

regulação da lipólise, inibindo e estimulando, respectivamente este processo (POLAK et al., 2007). A ação dos HTs na lipólise pode ser atribuída ao aumento da atividade da lipase hormônio-sensível ou por meio do estímulo à lipólise induzida pelas catecolaminas (HELLSTRÖM et al., 1997).

Estudo em pacientes com hipotireoidismo clínico há aumento do colesterol total e da lipoproteína de baixa densidade (LDL) decorrente da lentificação na depuração da LDL plasmático pois há uma redução no número de receptores para a LDL no fígado (CAPPOLA; LADENSON, 2003). Em estudo com mulheres hipotireoidianas, observou-se redução no catabolismo da LDL, mediado por receptor, comparado com controles eutireoideanas e, após terapia de reposição de T4 houve uma melhora significativa na concentração dessa lipoproteína (THOMPSON; EVANS, 1989). Estudo em ratos com hipotireoidismo, induzido com propiltiouracil, mostrou uma redução de 50% nos níveis de RNAm do receptor de LDL (SALTER et al., 1991).

A concentração da lipoproteína de alta densidade (HDL) pode estar normal ou elevado no hipotireoidismo clínico devido a uma diminuição na atividade da enzima colesterol-ester transferase e da lipase hepática que são controladas pelos hormônios tireoideanos (CAPPOLA; LADENSON, 2003). No hipertireoidismo observa-se diminuição nos níveis de HDL (DUNTAS, 2002).

No hipertireoidismo tanto a síntese quanto a degradação de triglicerídeos e colesterol estão aumentadas, com predomínio da ação catabólica. Esse efeito resulta em redução da concentração sérica do colesterol total e dos triglicerídeos e aumento dos ácidos graxos livres e do glicerol, produtos da degradação das lipoproteínas plasmáticas (PEPPA; BETSI; DIMITRIADIS, 2011).

2.6.3 Balanço energético

O hipotireoidismo é associado com modesto ganho de peso, diminuição da termogênese e da taxa metabólica, enquanto o hipertireoidismo com perda de peso, aumento do apetite e na taxa metabólica (REINEHR, 2010). Esses aspectos são conhecidos como alteração do balanço energético, termo utilizado para indicar a quantidade de energia ingerida e a quantidade de energia gasta pelo organismo. Quando a energia ingerida é igual à energia gasta, o peso corporal permanece estável, mas quando há aumento da energia ingerida ou aumento do gasto, o balanço energético torna-se positivo ou negativo, respectivamente e,

como consequência há aumento ou diminuição do peso corporal nos casos correspondentes (ARAÚJO; CARVALHO, 2011).

Os HTs possuem a capacidade de aumentar o consumo de oxigênio em vários órgãos e tecidos, assim, oscilações nas concentrações desses hormônios podem causar alterações na taxa metabólica, mas ainda não está claro se as alterações no TSH e nos HTs são a causa ou a consequência do balanço energético positivo ou negativo (REINEHR et al., 2008). Entretanto, sabe-se que há alterações no eixo hipotálamo-hipófise-tireoide causada por: disfunção no eixo hipotálamo-hipófise, modificação na função da glândula tireoide e alterações na atividade das iodotironinas desiodases (ARAÚJO; CARVALHO, 2011).

Não há consenso em relação ao perfil sérico dos HTs no balanço energético positivo. Estudos têm mostrado tanto o aumento quanto a manutenção dos níveis circulantes de TSH em indivíduos obesos (REINEHR et al., 2008; ROTONDI et al., 2009). Assim, tem sido proposto que indivíduos obesos com TSH elevado, mas sem alteração na concentração sérica dos HTs possuem hipotireoidismo subclínico (REINEHR, 2010). Quanto aos HTs observaram-se obesos com aumento de T3 no soro sem alteração no T4 circulante bem como com T3 normal e diminuição de T4 (KNUDSEN et al., 2005; DE PERGOLA et al., 2007).

O TSH sérico está positivamente correlacionado com o índice de massa corporal (IMC) e os níveis de leptina circulantes (CHAN et al., 2003). Em estudo envolvendo idosos com função tireoidiana normal ou portadores de hipotireoidismo observou-se uma correlação direta entre os valores de TSH sérico e IMC (GUSSEKLOO et al., 2004). Estudo em animais evidenciou que a leptina sérica se correlaciona com os níveis de TSH sérico (ARAÚJO et al., 2010). A leptina estimula a expressão do gene TRH tanto diretamente no núcleo paraventricular do hipotálamo quanto indiretamente no núcleo arqueado (GHAMARI-LANGROUDI et al., 2010). Além disso, a leptina atua como regulador da atividade central e periférica das iodotironinas desiodases (ARAÚJO et al., 2009).

Em suma, sabe-se que os hormônios tireoidenais são fundamentais para o desenvolvimento fetal e o metabolismo dos nutrientes e que o hipotireoidismo durante a gestação apresenta consequências importantes para a gestante e para o feto. Além disso, já é conhecido que a sociedade atual passa por um processo de transição nutricional no qual há um aumento do consumo de alimentos hipercalóricos ou hiperlipídicos, principalmente, ricos em ácidos graxos saturados e que essa modificação no hábito alimentar durante a gestação pode estar associada a desordens metabólicas na vida pós-natal. Assim, hipotetizamos que a

associação do hipotireoidismo e da dieta hiperlipídica exclusivamente no período gestacional possa gerar alterações no desenvolvimento dos órgãos e/ou nos mecanismos neuroendócrino e causar repercussões no metabolismo e no comportamento ingestivo durante a vida pós-natal da prole.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar as repercussões do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) associado à dieta hiperlipídica (DH), durante a gestação, na função metabólica e no comportamento de ingestão alimentar, de sódio e água ao longo da vida pós-natal da prole de ratas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar o efeito do HGE e/ou da DH:

- i. na massa corporal das ratas prenhas;
- ii. na ingestão alimentar e de água das ratas prenhas;
- iii. no índice reprodutivo das ratas prenhas;
- iv. no desenvolvimento corporal ao longo da vida pós-natal da prole;
- v. no comportamento de ingestão induzida de leite materno da prole;
- vi. no comportamento de ingestão espontânea de ração, água e sódio em diferentes fases da vida pós-natal da prole;
- vii. na homeostase glicêmica da prole;
- viii. no perfil lipídico da prole;
- ix. na ureia sérica da prole;
- x. no hematócrito da prole;
- xi. no peso dos órgãos da prole.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS UTILIZADOS

Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe (UFS) que foram distribuídos da seguinte forma:

Categoria I: machos adultos (250 a 300g) para acasalamento com as fêmeas adultas da **Categoria II**.

Categoria II: fêmeas adultas (150 a 200g) foram acompanhadas para acasalamento programado. Os animais dessa categoria foram utilizados para acompanhamento da massa corporal e da ingestão alimentar durante a gestação e para obtenção da prole (**Categoria III**). Confirmadas as gestações, as ratas foram distribuídas da seguinte forma:

- i) **Grupo 1** – ratas que receberam dieta controle (grupo de ratas submetidas à dieta controle – RDC) a partir do terceiro dia de gestação (3° DG) até o dia do parto:
 - a. associado ao veículo (grupo de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle – RE + DC);
 - b. associado ao protocolo de indução do hipotireoidismo gestacional experimental (HGE) a partir do nono dia de gestação (9° DG) até o dia do parto (grupo de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle – RH + DC).

- ii) **Grupo 2** – ratas que receberam dieta hiperlipídica (grupo de ratas submetidas à dieta hiperlipídica – RDH) a partir do 3° DG até o dia do parto:
 - a. associado ao veículo (grupo de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica – RE + DH);
 - b. associado ao protocolo de indução do HGE a partir do 9° DG até o dia do parto (grupo de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica – RH + DH).

Categoria III: prole das ratas provenientes da **Categoria II**. No 5° dia pós-natal (DPN), a prole foi normalizada para 8 filhotes por ninhada, sendo 4 machos e 4 fêmeas.

Durante todo o estudo os animais tiveram livre acesso à água e a ração. As salas de manutenção dos animais e experimentação, localizadas no Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Comportamental - UFS, tinham luminosidade controlada com ciclo claro-escuro de 12h/12h (luz das 6 às 18h) e temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.2 ASPECTOS ÉTICOS

Todos os procedimentos aos quais os animais utilizados neste estudo foram submetidos estão de acordo com as normas e princípios éticos preconizados pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (BRASIL, 2013a), bem como pelas Diretrizes da Prática de Eutanásia (BRASIL, 2013b), ambas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Toda a equipe executora deste projeto esteve ciente do conteúdo da lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 (Lei Arouca) em tempo para a execução do mesmo. Além disso, o projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UFS, sob o nº 69/12. Todos os esforços foram feitos para minimizar o número de animais a serem utilizados bem como a geração de desconforto e sofrimento.

4.3 ACASALAMENTO

Enquanto não estavam prenhas, as fêmeas da **Categoria II** foram mantidas em caixas de policarbonato coletivas. Diariamente, por no mínimo uma semana antes do acasalamento, as ratas foram submetidas à análise colpocitológica para confirmação da regularidade do ciclo reprodutivo (ciclo estral). Quando estavam na fase apropriada para acasalamento (Proestro), as fêmeas foram colocadas na presença de machos, **Categoria I**, na proporção de duas fêmeas para cada macho, sendo mantidos juntos por aproximadamente 12 horas. Após este período, as ratas foram novamente submetidas à análise colpocitológica para a verificação da presença de espermatozoides e, desta forma, confirmação da ocorrência de cópula. Em caso positivo, este foi determinado como 0 DG.

4.4 DIETAS

As dietas controle (DC) e hiperlipídica (DH) foram produzidas no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e foram ofertadas às ratas prenhas a partir do 3º DG até o dia do parto (~21º DG).

A dieta controle teve como base a formulação reportada por REEVES; NIELSEN; FAHEY (1993). A formulação da dieta hiperlipídica levou em consideração a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) 2002/2003 (BRASIL, 2004), mas foram necessárias adaptações da composição nutricional para adequar a fase de reprodução de ratos. As modificações realizadas foram a adequação do teor proteico e o incremento de ácidos graxos saturados que gerou, como consequência, diminuição no teor de carboidrato em comparação a distribuição de macronutrientes encontrada na POF. Os ingredientes utilizados na confecção das dietas bem como a composição centesimal e de ácidos graxos encontram-se nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. Na Tabela 4, encontra-se a contribuição energética dos macronutrientes das rações utilizadas neste estudo.

Tabela 1. Ingredientes utilizados nas dietas.

Ingredientes	Dieta Controle (g/100g)	Dieta Hiperlipídica (g/100g)
Amido de milho	52,9	11,8
Farinha de trigo	-	12,0
Biscoito maisena	-	7,2
Farinha de soja	-	8,5
Soja	-	0,1
Banha	-	5,5
Margarina	-	3,5
Creme de leite	-	3,0
Caseína	20,0	20,0
Sacarose	10,0	20,0
Óleo de soja	7,0	4,0
Fibras (celulose)	5,0	0,3
Mix mineral (AIN-93G-MX)	3,5	2,5
Mix vitaminas (AIN-93G-VX)	1,0	0,7
DL-metionina	0,3	0,3
Bitartarato de colina	0,25	0,25
Butilhidroquinona	0,0014	0,0014
Cloreto de sódio	-	0,36
Soma	100	100
Energia (kcal/g)	3,6	4,2

Tabela 2. Composição centesimal das dietas.

Nutrientes*	Dietas	
	Controle (g/100g)	Hiperlipídica (g/100g)
Proteína	17,3	20,8
Proteína Animal	17,0	16,0
Proteína Vegetal	0,3	4,8
Lípídeo	7,0	14,7
Carboidrato	55,0	51,7
Fibras (Celulose)	5,0	0,3
Mix de Mineral	3,5	2,5
Mix de Vitaminas	1,0	0,7
DL-Metionina	0,3	0,3
Bitartarato de colina	0,25	0,25
BTH	0,0014	0,0014
Energia total (Kcal/g)	3,6	4,2

*Os cálculos da composição centesimal foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos, pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos e análise do Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos da UFPE.

Tabela 3. Distribuição dos ácidos graxos das dietas.

Ácido graxo	Dieta Controle (%)	Dieta Hiperlipídica (%)
Saturado	25,99	67,59
Monoinsaturado	12,32	16,47
Poliinsaturado	61,65	15,94

Tabela 4. Contribuição energética dos macronutrientes em relação à energia total.

Nutrientes	Controle*	Labina®**	Hiperlipídica***	POF (2002/2003)
Proteína (%)	18,0	26	19,9	13,58
Lípídeo (%)	19,0	11	31,5	30,52
Carboidrato (%)	63,0	63	49,3	55,90

* AIN-93G-Adaptado de Reeves, 1997.

** Dieta normocalórica para roedores (Purina®), determinado pelo Instituto Adolfo Lutz, 1985.

*** Adaptado da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) 2002/2003

4.5 DROGA UTILIZADA

Para a indução de hipotireoidismo gestacional experimental foi utilizado o inibidor da iodoperoxidase, metimazol (MTZ) (2-Mercapto-1-methylimidazol, Sigma, St. Louis, USA), administrado *ad libitum* na concentração de 0,02% na água de beber (água de torneira) a partir do 9º DG até o dia do parto (SALA-ROCA et al., 2002). A solução foi protegida da luminosidade e trocada a cada dois dias. O grupo de ratas eutireoideanas (RE) recebeu água

de torneira *ad libitum*. Para melhor entendimento, a descrição dos tratamentos submetidos às ratas prenhas encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5. Descrição dos tratamentos submetidos às ratas prenhas.

Grupo	Tratamentos
Ratas Eutireoideanas submetidas à Dieta Controle (RE + DC)	Controle (água da torneira) + Dieta Controle
Ratas Eutireoideanas submetidas à Dieta Hiperlipídica (RE + DH)	Controle (água da torneira) + Dieta Hiperlipídica
Ratas Hipotireoideanas submetidas à Dieta Controle (RH + DC)	Metimazol 0,02% + Dieta Controle
Ratas Hipotireoideanas submetidas à Dieta Hiperlipídica (RH + DH)	Metimazol 0,02% + Dieta Hiperlipídica

4.6 DURAÇÃO DA GESTAÇÃO E ÍNDICE REPRODUTIVO

Foi avaliado o tempo de gestação e o número de filhotes por ninhada das ratas prenhas da **Categoria II**.

4.7 MEDIDAS E ÍNDICES CORPORAIS

4.7.1 Massa corporal

As ratas prenhas (**Categoria II**) foram pesadas diariamente a partir do 3º DG. Foi utilizado para fins estatísticos a massa corporal do 3º DG, 7º DG, 14º DG e 20º DG. A prole (**Categoria III**) foi pesada semanalmente do 1º até o 120º DPN.

4.7.2 Comprimento da cauda

Foi mensurado o comprimento da cauda da prole do 1º ao 120º DPN (MARINO et al., 2008; SANTANA-FARRÉ et al., 2012). O animal foi imobilizado para realizar a marcação correspondente ao comprimento da cauda no papel e, posteriormente, foi realizada a leitura da marcação com uma régua.

4.7.3 Relação peso do órgão/comprimento da tíbia

A relação do peso do órgão/comprimento da tíbia foi obtida na prole, **Categoria III** aos 60 DPN. Primeiramente, foi realizada a eutanásia, seguida por retirada do coração, fígado, pulmão, rins, gordura retroperitoneal e a tíbia esquerda. Assim, o peso dos órgãos foi mensurado em balança de precisão, e por meio de um paquímetro realizou-se a medida do comprimento da tíbia.

4.8 COMPORTAMENTO DE INGESTÃO

4.8.1 Medidas da ingestão alimentar e de água das ratas prenhas

A avaliação da ingestão alimentar (dieta controle ou hiperlipídica) e de água das ratas prenhas, da **Categoria II**, foi realizada diariamente a partir do 3° até o 20° DG. A partir dos dados obtidos da ingestão alimentar foram realizados os cálculos da quantidade energética e dos macronutrientes ingeridos durante o período gestacional. As leituras foram realizadas a cada 24 horas, impreterivelmente no mesmo horário. Foram utilizadas de 8 a 10 ratas prenhas em cada grupo estudado.

4.8.2 Estimativa da ingestão induzida de leite materno

O protocolo de ingestão induzida de leite foi modificado daquele descrito por PERILLAN et al. (2007). Aos 5 DPN e 15 DPN, com a prole previamente ajustada com 8 filhotes por ninhada, a rata foi separada da prole por duas horas. Os filhotes tiveram as caudas marcadas e após as duas horas de privação foram pesados, e em seguida retornaram para suas respectivas mães para ingestão de leite *ad libitum* por 1 h e 45 min. Após esse tempo, a prole foi novamente pesada. A quantidade ingerida de leite foi calculada pela diferença entre os pesos dos filhotes antes e após a amamentação. Para esta análise, foram utilizados a seguinte quantidade de animais aos 5 e 15 DPN, respectivamente: prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle: n=50/ n=49; prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica: n=40/ n=39; prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle: n=33/ n=35; prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica: n=38/ n=52.

4.8.3 Comportamento da ingestão espontânea de ração, água e sódio (NaCl 0,3 M) da prole

Os machos da **Categoria III** foram alocados em gaiolas metabólicas individuais equipadas com comedouros e bebedouros graduados, onde tiveram livre acesso à ração, água e solução de NaCl 0,3 M por 7 dias aos 30, 60, 90 e 120 DPN. Foram utilizados 8 a 10 animais por grupo e para fins de análise utilizou-se a média dos 7 dias.

Ração comercial para roedores (Labina) foi disponibilizada *ad libitum* aos animais desta categoria em comedouros individuais e pesada diariamente sempre no mesmo horário e descontado o desperdício coletado no fundo da gaiola. A leitura da ingestão espontânea de ração foi realizada a cada 24 horas. A contribuição energética dessa ração encontra-se na Tabela 4.

A água e a solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,3 M ficaram disponíveis *ad libitum* em dois bebedouros de polipropileno localizados na parte frontal da gaiola. Os bebedouros, com capacidade de 100 mL, possuíam graduação a cada 1 mL, sendo vedados com rolha de borracha com bico de aço inoxidável. Os volumes ingeridos de água e NaCl 0,3 M foram mensurados a cada 24 horas, sempre no mesmo horário.

4.9 IDADE DE ABERTURA OCULAR

Foi avaliado o tempo necessário para a abertura ocular da prole, **Categoria III**, com a finalidade de se obter mais um marcador do desenvolvimento orgânico (COHEN, 1962; ALM et al., 1988). A abertura ocular foi considerada quando a prole apresentava-se com os dois olhos completamente abertos.

4.10 COLETA DO MATERIAL

Foram coletadas amostras de sangue da prole aos 60 DPN. Para coleta do sangue, os animais foram eutanasiados, por método de decapitação, e as amostras foram coletadas em tubos de polietileno de 15 mL, previamente identificados, sem anticoagulante. Para obtenção de soro, os tubos foram centrifugados a 4°C por 15 minutos a 10.000 rotação por minuto e o sobrenadante armazenado a -80°C para posteriores dosagens bioquímicas.

4.11 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS

4.11.1 Perfil lipídico

As concentrações plasmáticas de colesterol total, fração HDL-colesterol e triglicerídeos foram avaliados por método enzimático colorimétrico (Doles Reagentes), conforme descrito pelo fabricante, com absorbância aferida em leitor de microplaca (Synergy MX[®], Biotek, USA). Foram utilizados 10 a 12 animais por grupo.

4.11.2 Glicemia

A glicose sanguínea foi mensurada utilizando-se glicosímetro portátil (Accu-check/Roche). Foram utilizados 9 a 11 animais por grupo.

4.11.3 Teste de tolerância à insulina intraperitoneal (TTI)

Para o TTI utilizou-se o método de YUAN et al. (2011) modificado. Os animais foram submetidos a jejum de seis horas e, posteriormente, foram injetados 0,75U/kg i.p. de insulina regular humana e as amostras de sangue foram coletadas da veia caudal nos tempos 0, 20, 40, 60, 90 e 120 minutos subsequentes para medidas da glicemia, como descrito no item 4.11.2. Foram utilizados 8 a 11 animais por grupo.

4.11.4 Teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTG)

Após 96 horas do TTI, os mesmos animais foram submetidos ao TTG, conforme descrito por YUAN et al. (2011), com modificações. Para tanto, os animais foram mantidos por doze horas em jejum. Em seguida foi administrada glicose, a 50%, i.p., na proporção de 2 mg de glicose por grama de peso do animal. A glicemia foi mensurada nos tempos 0, 30, 60, 120 e 180 minutos pós-injeção como descrito no item 4.11.2. Foram utilizados 9 a 11 animais por grupo.

4.11.5 Ureia sérica

A ureia sérica foi mensurada por método enzimático colorimétrico utilizando-se kits comerciais (Doles Reagentes), conforme descrito pelo fabricante, com absorbância aferida em

leitor de microplaca (Synergy MX[®], Biotek, USA). Foram utilizados 10 a 12 animais por grupo.

4.11.6 Hematócrito

Para determinação do hematócrito, as amostras de sangue foram coletadas em tubos heparinizados e colocadas na centrífuga para micro-hematócrito (LAB – 031, Benfer, BRA). A leitura da percentagem de hematócrito foi realizada por meio de uma escala graduada. Foram utilizados 6 a 11 animais por grupo.

4.12 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos seguiram o seguinte cronograma experimental:

Categoria I: 1. Os machos foram colocados para acasalar com as fêmeas da **Categoria II.**

Categoria II: 1. As fêmeas foram acompanhadas para detecção do proestro e acasalamento com os machos da **Categoria I.** 2. A partir do 3º DG, as ratas prenhas receberam DC ou DH até o dia do parto. 3. Foi realizado o acompanhamento da massa corporal e da ingestão alimentar e de água do 3º DG até o dia do parto. 4. A partir do 9º DG, uma parte das ratas recebeu MTZ 0,02% até o dia do parto. 5. Foi avaliado o número de filhotes por ninhada e a duração da gestação. 6. A prole dessas ratas compõe a **Categoria III.**

Categoria III: 1. A partir do 1º ao 120º DPN foi avaliado, semanalmente, o peso e o comprimento da cauda. 2. No 5º DPN foi realizada a sexagem e o tamanho da prole foi normalizada para 8 filhotes por ninhada, sendo 4 machos e 4 fêmeas. 3. No 5º e 15º DPN foi realizada estimativa da ingestão induzida de leite materno. 4. Ao longo de todo o período de aleitamento, os animais foram acompanhados para detecção da idade de ocorrência da abertura ocular. 5. No 21º DPN foi realizado o desmame da prole. 6. Aos 30 DPN a prole foi separada por sexo. 7. Machos, de cada grupo, foram submetidos à avaliação da ingestão de ração, água e solução de NaCl 0,3 M aos 30, 60, 90 e 120 DPN. 8. Foi realizado TTI e TTG, além de dosagens bioquímicas e coleta dos órgãos aos 60 DPN, em ambos os sexos.

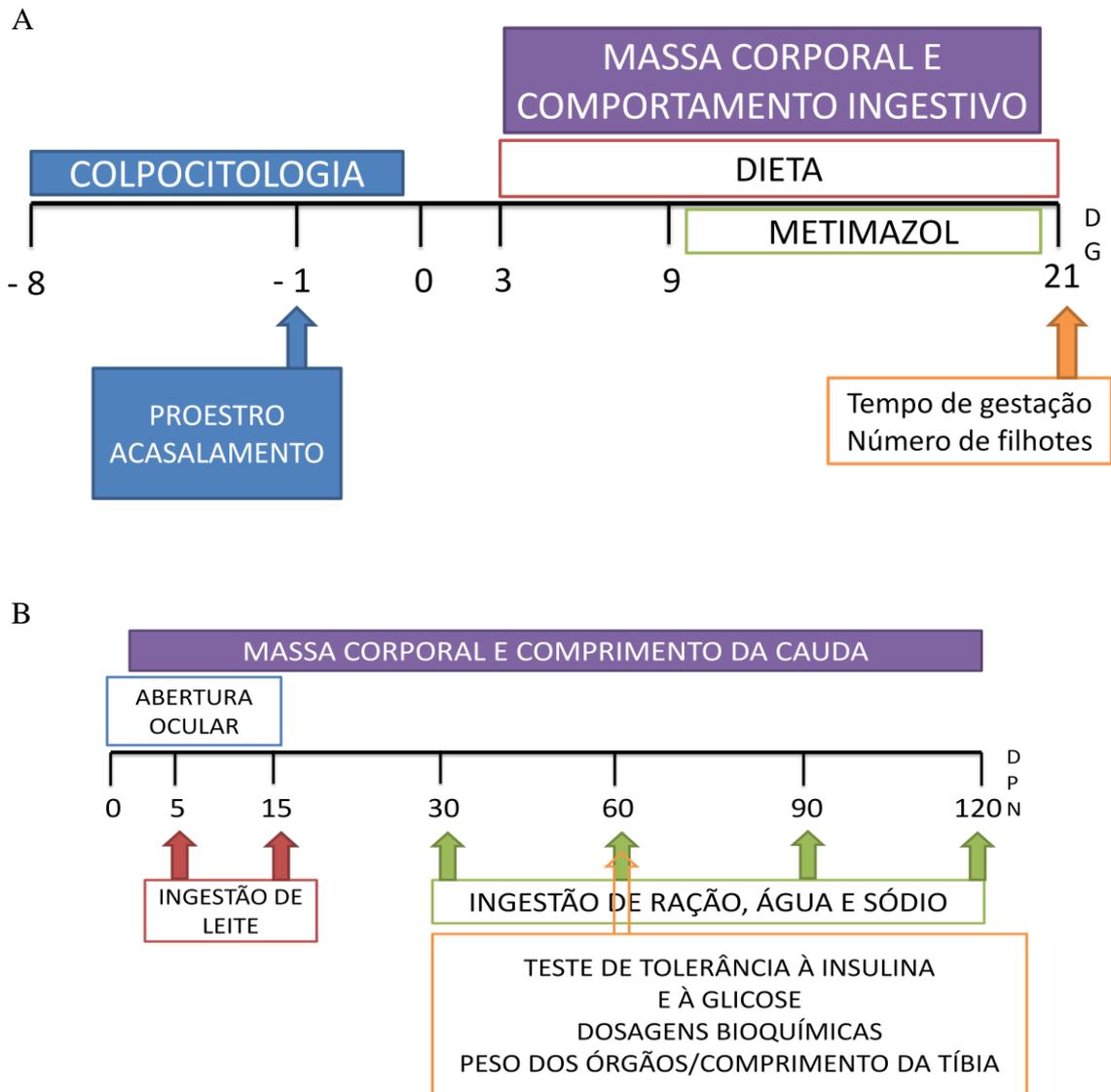


Figura 3. Procedimento experimental nas ratas prenhas (Painel A) e na prole (Painel B).

4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram expressos em valores de média e erro padrão da média. Os dados foram analisados estatisticamente utilizando-se a análise de variância (ANOVA) de três vias e/ou duas vias, seguida do pós-teste de Bonferroni. Os fatores de variação encontrados nesse estudo são: ‘tempo’, referente ao período de tempo no qual a variável em estudo foi analisada; ‘tratamento’, referente às ratas induzidas ao HGE e suas respectivas proles e ‘dieta’, referente às ratas que ingeriram DC ou DH e suas respectivas proles. O nível crítico fixado foi de 5% ($p < 0,05$) para admitir uma diferença de médias como estatisticamente significativa. Para realização dos testes estatísticos foram utilizados os programas Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) e SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, USA).

5 RESULTADOS

5.1 RATAS PRENHAS

Ao avaliar a massa corporal não se verificou interação dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ ($p = 0,75$). Entretanto, foi observada interação dos fatores ‘tempo’ e ‘tratamento’ ($F_{(3,99)} = 3,04$, $p = 0,03$) e o pós-teste de Bonferroni evidenciou que as ratas hipotireoideanas (RH) apresentaram menor massa corporal, no 20º dia de gestação (DG), quando comparadas às ratas eutireoideanas (RE) ($296,5 \pm 5,3$ versus $311,8 \pm 4,4$ g, $p < 0,05$) (Figura 4A). Quando se realizou a análise do ganho da massa corporal durante o período estudado, do 3º ao 20º DG, não foi observada interação dos fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ ($p = 0,62$) (Figura 4B).

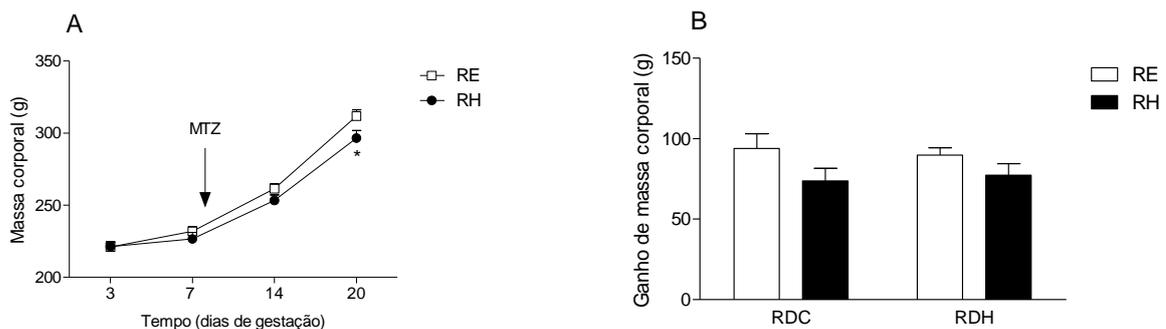


Figura 4. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na massa corporal ao longo da gestação (Painel A) e no ganho de massa corporal do 3º ao 20º DG (Painel B). Painel A: RE: ratas eutireoideanas (com dieta controle e dieta hiperlipídica), $n=17$; RH: ratas hipotireoideanas (com dieta controle e dieta hiperlipídica), $n=18$; Painel B: ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, $n=9$; ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, $n=8$; ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, $n=10$; ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, $n=8$. Análise estatística: Painel A: ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni; Painel B: ANOVA de duas vias. (*) $p < 0,05$ versus RE. MTZ: início da indução do hipotireoidismo gestacional experimental ao 9º DG. RDC: ratas submetidas à dieta controle; RDH: ratas submetidas à dieta hiperlipídica.

Conforme demonstrado na Figura 5A, não foi verificada interação dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’, ($p = 0,67$) sobre a ingestão de ração das ratas prenhas. Entretanto, foi observada interação dos fatores ‘tempo’ e ‘dieta’ ($F_{(3,99)} = 19,55$, $p < 0,001$) e o pós-teste de Bonferroni indicou que as ratas submetidas à dieta hiperlipídica (RDH) apresentaram uma maior ingestão de ração no 3º DG, quando comparadas às ratas que receberam dieta controle (RDC) ($19,27 \pm 0,83$ versus $10,64 \pm 1,92$ g, $p < 0,001$), mas no 7º DG e no 14º DG, as RDH apresentaram menor ingestão de ração quando comparadas às RDC

($14,91 \pm 0,64$ versus $19,49 \pm 0,89$ g, $p < 0,05$; $13,21 \pm 0,80$ versus $18,04 \pm 0,60$ g, $p < 0,01$, respectivamente).

Realizou-se, também, análise da ingestão de ração cumulativa do 3° ao 20° DG (Figura 5B), e foi observado efeito significativo dos fatores ‘tratamento’ ($F_{(1,31)} = 8,61$, $p = 0,006$) e ‘dieta’ ($F_{(1,31)} = 25,81$, $p < 0,001$), isoladamente. O pós-teste de Bonferroni evidenciou que RDH apresentaram menor ingestão cumulativa de ração quando comparadas as RDC tanto nas RE ($278,0 \pm 7,1$ versus $331,6 \pm 10,4$ g, $p < 0,01$) quanto nas RH ($248,4 \pm 13,9$ versus $300,3 \pm 9,2$ g, $p < 0,01$). Quanto à ingestão de água, não foi encontrada interação entre os fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ ($p = 0,74$) (Figura 5C) e também não foi evidenciada interação quando da análise de variância de dois fatores, considerando-se todas as combinações possíveis dentre os três fatores de variação estudados. Conforme demonstrado na Figura 5D, não foi encontrada diferença ao analisar a ingestão cumulativa de água em função do ‘tratamento’ ($p = 0,78$) e da ‘dieta’ ($p = 0,56$), isoladamente, bem como não houve interação dos fatores estudados ($p = 0,24$).

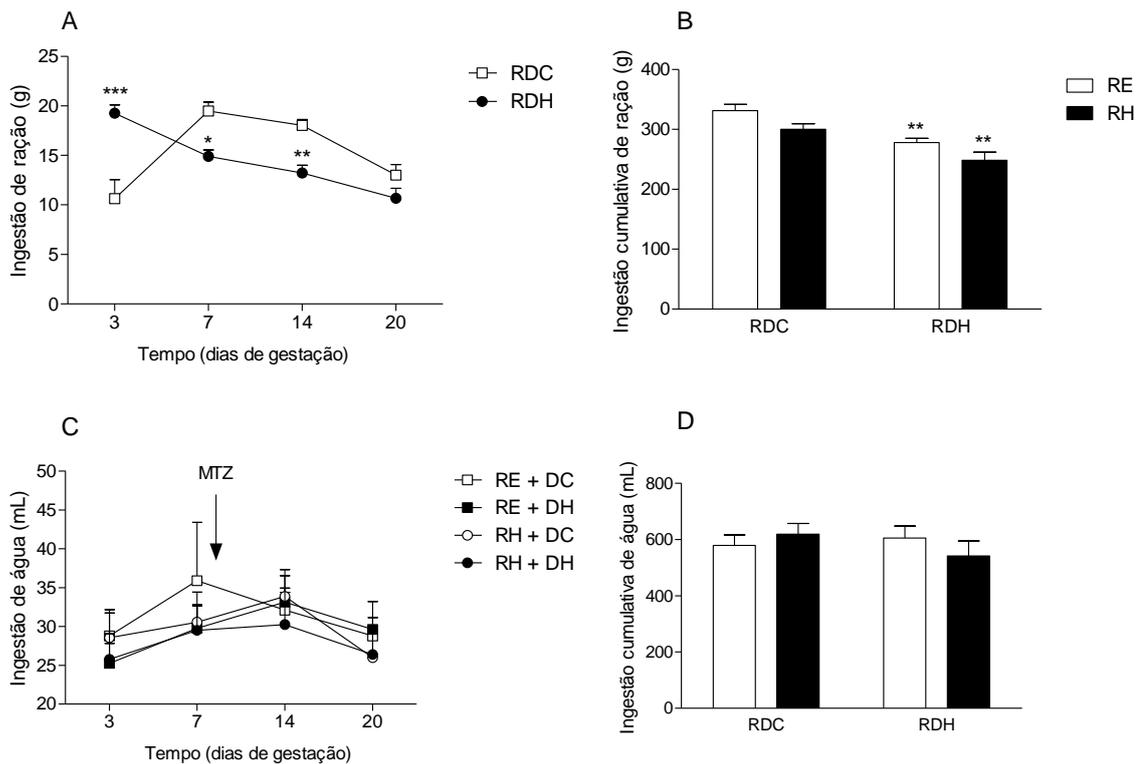


Figura 5. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na ingestão de ração e água em 24h (Painéis A e C) e na ingestão cumulativa de ração e água do 3º ao 20º DG (Painéis B e D). Painel A: RDC: ratas submetidas à dieta controle (com e sem hipotireoidismo), n=19; RDH: ratas submetidas à dieta hiperlipídica (com e sem hipotireoidismo), n=16; Painéis B a D: RE + DC: ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=9; RE + DH: ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=8; RH + DC: ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=10; RH + DH: ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=8. Análise estatística: Painéis A, B e D: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni; Painel C: ANOVA de três vias. Painéis A e B: (*) p<0,05; (**) p<0,01; (***) p<0,001 RDH versus RDC. MTZ: início da indução do hipotireoidismo gestacional experimental ao 9º DG; RE: ratas eutireoideanas; RH: ratas hipotireoideanas.

A descrição dos macronutrientes e da energia ingerida pelas ratas prenhas encontra-se na Tabela 6. Pode-se observar que as RH apresentaram menor ingestão calórica e de proteína quando comparadas as RE [fator ‘tratamento’ ($F_{(1,31)} = 9,17$, $p = 0,005$; $F_{(1,31)} = 8,60$, $p = 0,006$, respectivamente)]. Vale ressaltar que foi realizado o cálculo da eficiência alimentar durante o período estudado (dados não mostrados), mas não foi encontrada interação entre os fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ ($p = 0,59$) e, também, não foi observado efeito dos fatores ‘tratamento’ ($p = 0,27$) e ‘dieta’ ($p = 0,74$), isoladamente.

Ao analisar a ingestão de carboidrato, verificou-se efeito isolado dos fatores ‘tratamento’ ($F_{(1,31)} = 8,59$, $p = 0,006$) e ‘dieta’ ($F_{(1,31)} = 46,11$, $p < 0,001$) e o pós-teste de Bonferroni mostrou que as RDH apresentaram menor ingestão de carboidrato quando

comparadas às RDC tanto nas RE ($143,7 \pm 3,7$ versus $182,4 \pm 5,7$ g, $p < 0,001$) quanto nas RH ($128,4 \pm 7,2$ versus $165,2 \pm 5,1$ g, $p < 0,001$).

Na ingestão de lipídeos, observou-se efeito significativo dos fatores ‘tratamento’ ($F_{(1,31)} = 7,82$, $p = 0,009$) e ‘dieta’ ($F_{(1,31)} = 200,8$, $p < 0,001$), isoladamente. As RDH apresentaram maior ingestão de lipídeo quando comparadas às RDC tanto nas RE ($40,87 \pm 1,04$ versus $23,21 \pm 0,73$ g, $p < 0,001$) quanto nas RH ($36,52 \pm 2,04$ versus $21,02 \pm 0,64$ g, $p < 0,001$). Além disso, constatou-se que as ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (RH + DH) apresentaram menor ingestão de lipídeos quando comparadas às ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (RE + DH) ($36,52 \pm 2,04$ versus $40,87 \pm 1,04$ g, $p < 0,05$).

Tabela 6. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na ingestão cumulativa de energia e dos macronutrientes das ratas prenhas do terceiro ao vigésimo dia de gestação.

Grupos	Consumo total (Kcal)	Carboidrato (g)	Proteína (g)	Lipídeo (g)
RE + DC	$1193,64 \pm 37,49$	$182,36 \pm 5,73$	$57,36 \pm 1,80$	$23,21 \pm 0,73$
RE + DH	$1166,02 \pm 29,63$	$143,74 \pm 3,65^A$	$57,83 \pm 1,47$	$40,87 \pm 1,04^A$
RH + DC	$1077,01 \pm 30,48$	$165,16 \pm 5,06$	$51,95 \pm 1,59$	$21,02 \pm 0,64$
RH + DH	$1041,83 \pm 58,42$	$128,42 \pm 7,16^B$	$51,67 \pm 2,88$	$36,52 \pm 2,04^{B,C}$

RE + DC: ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=9; RE + DH: ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=8; RH + DC: ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=10; RH + DH: ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=8. Dados expressos em média \pm erro padrão da média. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni.

^A $p < 0,001$ versus ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle

^B $p < 0,001$ versus ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle

^C $p < 0,05$ versus ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica

Conforme demonstrado na Tabela 7, não foi encontrada diferença na duração da gestação, no número de filhotes e de natimortos por rata em função do ‘tratamento’ ($p = 0,21$; $p = 0,66$; $p = 0,89$, respectivamente) e da ‘dieta’ ($p = 0,15$; $p = 0,56$; $p = 0,16$, respectivamente), isoladamente e, também, não houve interação entre os fatores estudados ($p = 0,21$; $p = 0,35$; $p = 0,17$, respectivamente).

Tabela 7. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no tempo de gestação, número de filhotes e de natimortos por rata.

Grupos	Dias de Gestação	Número de filhotes/rata	Número de natimortos/rata
RE + DC	20,33 ± 0,17	11,67 ± 1,6	1,67 ± 0,80
RE + DH	20,25 ± 0,25	9,38 ± 1,28	1,63 ± 1,07
RH + DC	21,30 ± 0,52	9,60 ± 1,62	3,20 ± 1,30
RH + DH	20,25 ± 0,41	10,13 ± 1,25	0,38 ± 0,26

RE + DC: ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=9; RE + DH: ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=8; RH + DC: ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=10; RH + DH: ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=8. Dados expressos em média ± erro padrão da média. Análise estatística: ANOVA de duas vias.

5.2 PROLE

Ao analisar a evolução da massa corporal, do 1° ao 30° dia pós-natal (DPN) (Figura 6A), observou-se interação tripla dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ ($F_{(4,776)} = 5,66$, $p < 0,001$). A prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH) apresentou maior massa corporal no 21° DPN ($40,6 \pm 0,6$ g) quando comparada aos demais grupos (para PRE + DC: $35,2 \pm 0,6$ g, $p < 0,001$; para PRH + DC: $35,4 \pm 0,7$ g, $p < 0,001$; para PRH + DH: $36,2 \pm 0,6$ g, $p < 0,001$), bem como no 30° DPN ($78,8 \pm 1,1$ versus PRE + DC: $72,8 \pm 1,6$ g, $p < 0,001$; para PRH + DC: $71,8 \pm 1,6$ g, $p < 0,001$; para PRH + DH: $71,0 \pm 1,3$ g, $p < 0,001$).

Após a separação destes animais por gênero, a análise da massa corporal dos machos do 37° ao 120° DPN (Figura 6B) revelou interação tripla dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ ($F_{(11,583)} = 2,18$, $p = 0,01$). O pós-teste de Bonferroni evidenciou que os machos da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH) apresentaram menor massa corporal a partir do 44° DPN até o 120° DPN quando comparados aos machos da PRE + DH. As médias desses grupos estão expressas na Tabela 8.

Além disso, observou-se que os machos da PRH + DH também apresentaram menor massa corporal aos 81, 90, 104, 111 e 120 DPN (Figura 6B) quando comparados aos machos da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC) (para 81 DPN: $290,3 \pm 7,9$ versus $312,5 \pm 7,2$ g, $p = 0,001$; para 90 DPN: $312,7 \pm 9,2$ versus $331,1 \pm 6,7$ g, $p = 0,04$; para 104 DPN: $336,2 \pm 9,9$ versus $357,0 \pm 9,4$ g, $p = 0,003$; para 111 DPN: $335,7 \pm 11,4$ versus $372,3 \pm 10,1$ g, $p < 0,001$; para 120 DPN: $353,9 \pm 10,3$ versus $380,1 \pm 10,4$ g, $p < 0,001$).

Na Figura 6C pode-se observar a evolução da massa corporal das fêmeas. Não foi observada interação dos fatores 'tempo', 'dieta' e 'tratamento' ($p = 0,10$), assim como não foi evidenciada interação quando da análise de variância de dois fatores, considerando-se todas as combinações possíveis dentre os três fatores de variação estudados.

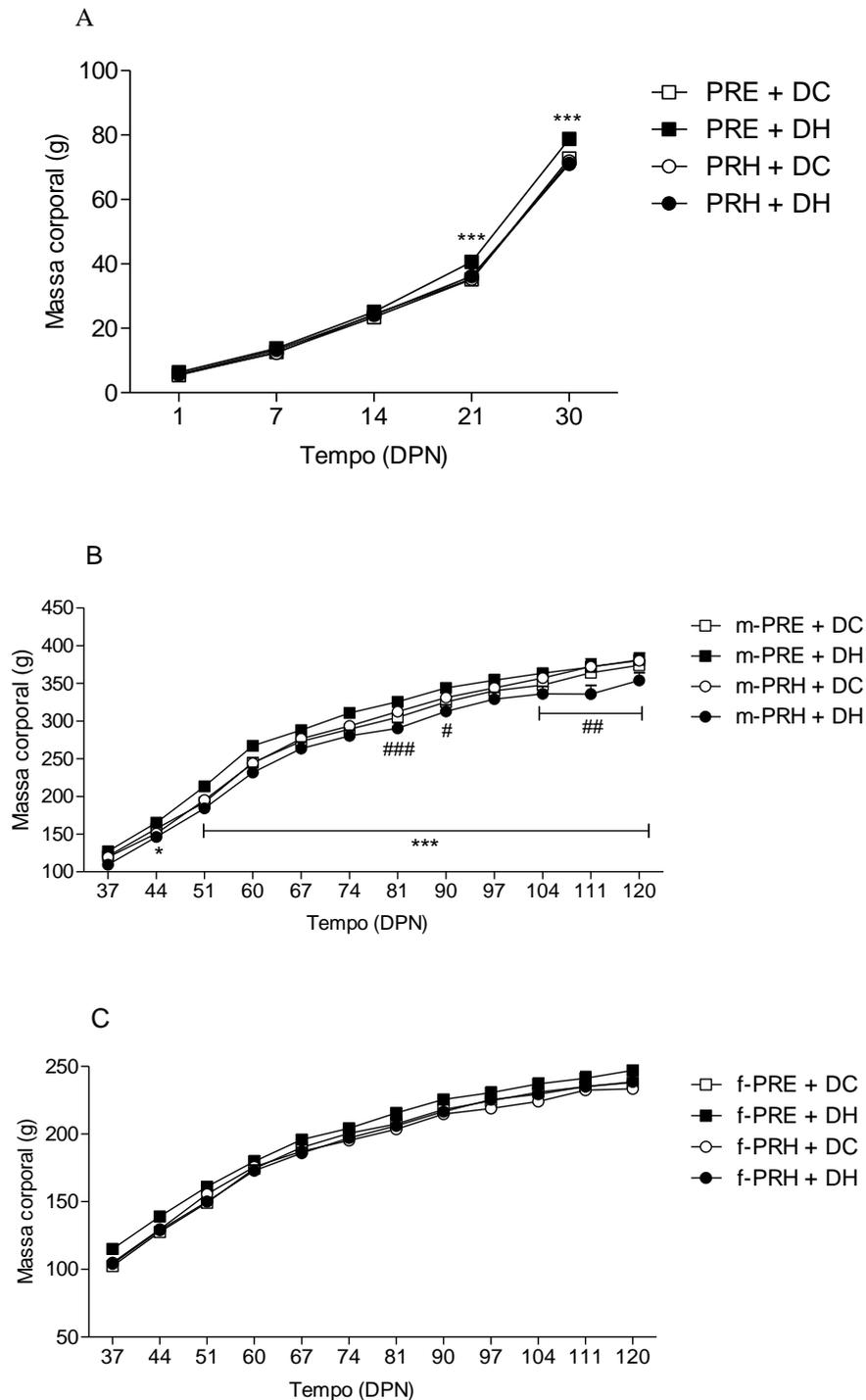


Figura 6. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na massa corporal da prole. Painel A: PRE + DC: prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=52; PRE + DH: prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=49; PRH + DC: prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=45; PRH + DH: prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=52; Painéis B e C: m- /f- PRE + DC: machos/fêmeas, n=14/ n=20, respectivamente; m- /f- PRE + DH: n=13/n=16, respectivamente; m- /f- PRH + DC: n=15/ n=10, respectivamente; m- /f- PRH + DH: n=15/ n=14, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de três vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Painel A: (***) $p < 0,001$ PRE + DH versus PRE + DC, PRH + DC, PRH + DH; Painel B: (*) $p < 0,05$, (***) $p < 0,001$ m- PRH + DH versus m- PRE + DH; (#) $p < 0,05$, (##) $p < 0,01$, (###) $p < 0,001$ m- PRH + DH versus m- PRH + DC. DPN: dia pós-natal.

Tabela 8. Descrição das médias da massa corporal do 44° ao 120° DPN dos machos da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH) e da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH).

Idade (DPN)	PRH + DH (g)	PRE + DH (g)	p
44	146,1 ± 5,4	165,15 ± 3,2	0,037
51	184,0 ± 5,8	213,38 ± 4,2	<0,001
60	231,6 ± 7,5	267,25 ± 5,1	<0,001
67	263,6 ± 8,4	288,12 ± 4,0	<0,001
74	280,3 ± 7,4	310,84 ± 5,2	<0,001
81	290,3 ± 7,9	325,67 ± 5,3	<0,001
90	312,7 ± 9,2	343,92 ± 6,8	<0,001
97	329,1 ± 8,7	354,23 ± 7,6	<0,001
104	336,2 ± 9,9	363,62 ± 6,5	<0,001
111	335,7 ± 11,4	371,62 ± 8,0	<0,001
120	353,9 ± 10,3	381,31 ± 8,4	<0,001

Dados expressos em média ± erro padrão da média. ANOVA de três vias seguido do pós-teste de Bonferroni. DPN: dia pós-natal.

Na Figura 7 está demonstrada a influência do hipotireoidismo gestacional associado ou não a dieta hiperlipídica no comprimento da cauda da prole. Não foi observada interação dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ ($p=0,071$) quando analisado o comprimento da cauda do 1° ao 30° DPN. Entretanto, observou-se interação dos fatores ‘tempo’ e ‘tratamento’ ($F_{(4,776)} = 17,21$, $p<0,001$) no qual foi mostrado que a prole de ratas hipotireoideanas (PRH) apresentou menor comprimento da cauda quando comparada a prole de ratas eutireoideanas (PRE) aos 30 DPN ($8,39 \pm 0,09$ versus $8,90 \pm 0,10$ cm, $p<0,001$) (Painel A). Além disso, constatou-se interação dos fatores ‘tempo’ e ‘dieta’ ($F_{(4,776)} = 4,62$, $p = 0,001$) e foi evidenciado que a prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica (PRDH) apresentou maior comprimento da cauda quando comparada a prole de ratas submetidas à dieta controle (PRDC) aos 14, 21 e 30 DPN ($4,27 \pm 0,03$ versus $4,04 \pm 0,05$ cm, $p = 0,006$; $5,81 \pm 0,05$ versus $5,47 \pm 0,07$ cm, $p<0,001$; $8,81 \pm 0,09$ versus $8,48 \pm 0,11$ cm, $p<0,001$, respectivamente) (Painel B).

Ao avaliar o comprimento da cauda do 37° ao 120° DPN não foi observada interação dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ nos machos, Painel C, ($p = 0,15$) e tampouco nas fêmeas, Painel D, ($p = 0,25$). Também não foi evidenciada interação ao realizar análise de variância de duas vias entre os três fatores estudados. Entretanto, nos machos (Painel C), foi

observado que a PRH apresentou menor comprimento da cauda quando comparado a PRE [fator 'tratamento' ($F_{(1,53)} = 9,77$, $p = 0,003$)].

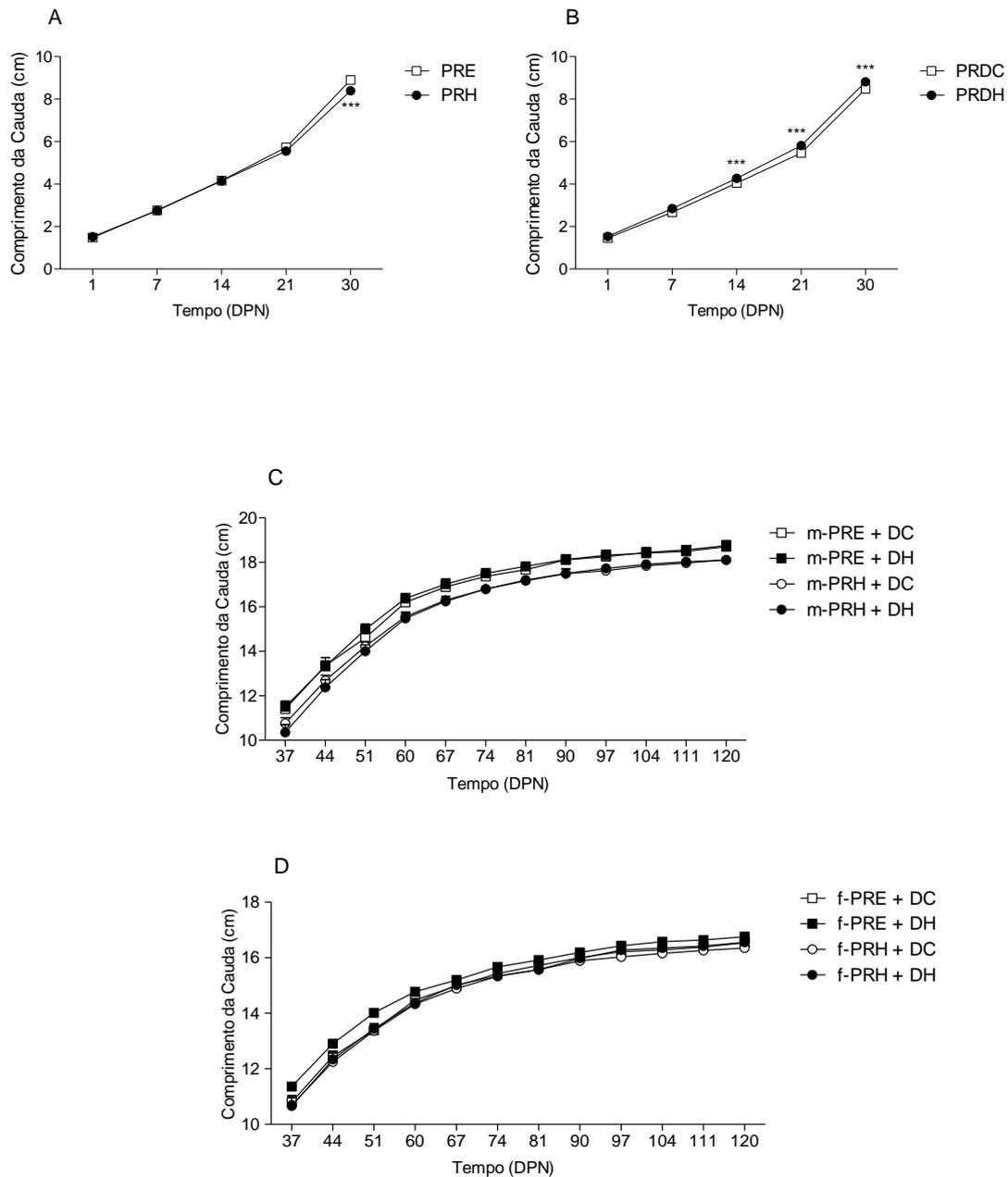


Figura 7. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no comprimento da cauda da prole. Painel A: PRE: prole de ratas eutireoideanas (prole de ratas com dieta controle e dieta hiperlipídica), n=101; PRH: prole de ratas hipotireoideanas (prole de ratas com dieta controle e dieta hiperlipídica), n=97; Painel B: PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle (prole de ratas com e sem hipotireoidismo), n= 97; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica (prole de ratas com e sem hipotireoidismo), n=101. Painéis C e D: m- /f- PRE + DC: machos/fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=14/ n=20, respectivamente; m- /f- PRE + DH: machos/fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=13/ n=16, respectivamente; m- /f- PRH + DC: machos/fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=15/ n=10, respectivamente; m- /f- PRH + DH: machos/fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=15/ n=14, respectivamente. Análise estatística: Painéis A e B: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni; Painéis C e D: ANOVA de três vias. Painel A: (***) p<0,001 PRH *versus* PRE; Painel B: (***) p<0,001 PRDH *versus* PRDC. DPN: dia pós-natal.

Na Figura 8 está representado o tempo de abertura ocular, no qual se constatou interação dos fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ ($F_{(1,197)} = 6,02$, $p = 0,02$) e efeito do fator ‘dieta’ ($F_{(1,197)} = 4,73$, $p = 0,03$). A prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH) apresentou uma antecipação na idade de abertura dos olhos quando comparada a prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC) ($14,90 \pm 0,09$ versus $15,48 \pm 0,12$ dias, $p < 0,01$). Além disso, observou-se que a prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH) apresentou um retardo na abertura ocular quando comparada a PRE + DH ($15,33 \pm 0,11$ versus $14,90 \pm 0,09$ dias, $p < 0,05$).

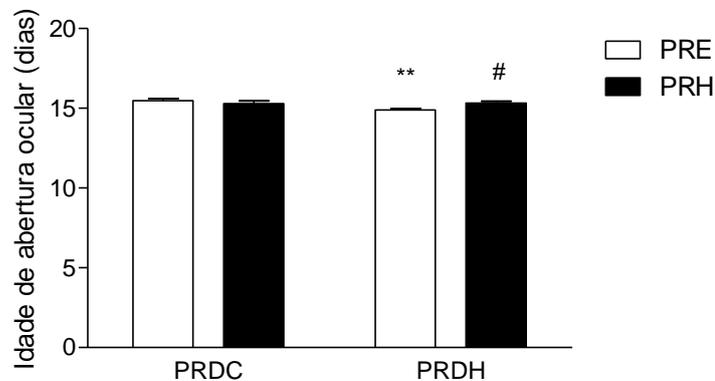


Figura 8. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na idade de abertura ocular da prole. Prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=52; prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=49; prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=48; prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=52. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. (**) $p < 0,01$ PRE + DH versus PRE + DC; (#) $p < 0,05$ PRH + DH versus PRE + DH. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica.

Na ingestão induzida de leite materno aos 5 DPN (Figura 9A) observou-se efeito do fator ‘dieta’ ($F_{(1,157)} = 4,76$, $p = 0,03$) e o pós-teste revelou que a PRH + DH apresentou maior ingestão induzida de leite materno quando comparada a PRH + DC ($2,26 \pm 0,27$ versus $1,40 \pm 0,25$ g/100g, $p < 0,05$). Aos 15 DPN (Figura 9B), observou-se interação dos fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ ($F_{(1,171)} = 4,81$, $p = 0,03$) e o pós-teste evidenciou que a PRE + DH apresentou maior ingestão induzida de leite materno quando comparada a PRE + DC ($1,74 \pm 0,14$ versus $1,20 \pm 0,12$ g/100g, $p < 0,05$).

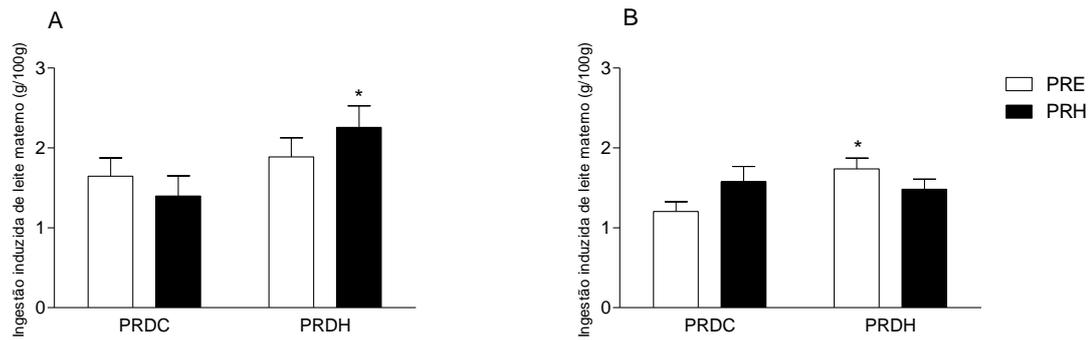


Figura 9. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na ingestão induzida de leite aos 5 DPN (Painel A) e 15 DPN (Painel B) na prole. Prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC) aos 5 DPN (n=50) e 15 DPN (n=49); prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH) aos 5 DPN (n=40) e 15 DPN (n=39); prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC) aos 5 DPN (n=33) e 15 DPN (n=35); prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH) aos 5 DPN (n=38) e 15 DPN (n=52). Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Painel A: (*) $p < 0,05$ PRH + DH versus PRH + DC; Painel B: (*) $p < 0,05$ PRE + DH versus PRE + DC. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

A massa corporal da prole de machos (Figura 10A) foi avaliada aos 30, 60, 90 e 120 DPN em função dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’, mas não foi observada interação dos fatores estudados ($p = 0,67$). Entretanto, observou-se interação dos fatores ‘dieta’ e ‘tratamento’ ($F_{(1,31)} = 9,88$, $p = 0,004$), evidenciando que no 30º DPN, a PRE + DH ($122,04 \pm 3,56$ g) apresentou maior massa corporal quando comparada a PRE + DC ($99,54 \pm 5,27$ g, $p < 0,001$) e a PRH + DH ($103,39 \pm 2,95$ g, $p < 0,01$). Nos demais tempos estudados não foram encontradas diferenças entre os grupos para os fatores ‘tratamento’ (para 60 DPN: $p = 0,44$; para 90 DPN: $p = 0,35$; para 120 DPN: $p = 0,42$) e ‘dieta’ (para 60 DPN: $p = 0,44$; para 90 DPN: $p = 0,74$; para 120 DPN: $p = 0,45$). Ao analisar os dados de ingestão de ração, água e salina 0,3 M (Figura 10B a 10D) não foi encontrada interação dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ (para ração: $p = 0,36$; para água: $p = 0,74$; para salina 0,3 M: $p = 0,27$) e também não foi evidenciada interação quando da análise de variância de dois fatores, considerando-se todas as combinações possíveis dentre os três fatores de variação estudados.

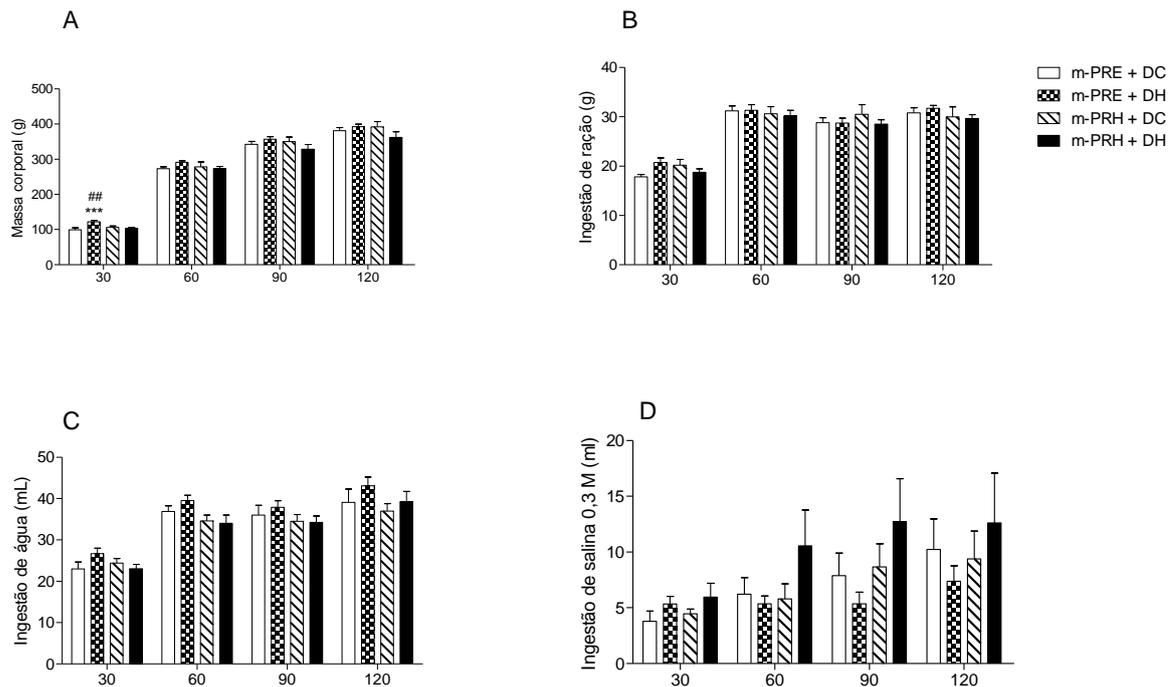


Figura 10. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na massa corporal (Painel A) e na ingestão espontânea de ração (Painel B), água (Painel C) e NaCl 0,3 M (Painel D) nos machos da prole aos 30, 60, 90 e 120 DPN. m-PRE + DC: machos da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=8; m-PRE + DH: machos da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=10; m-PRH + DC: machos da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=8; m-PRH + DH: machos da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=9. Análise estatística: Painel A: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni; Painéis B a D: ANOVA de três vias. Painel A: (***) $p < 0,001$ m-PRE + DH versus m-PRE + DC; (##) $p < 0,01$ m-PRE + DH versus m-PRH + DH. DPN: dia pós-natal.

Na Figura 11 está representado o teste de tolerância à insulina, em ambos os sexos, aos 60 DPN. Pode-se observar que não foi evidenciada interação dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ nos machos ($p = 0,79$) e tampouco nas fêmeas ($p = 0,55$). A análise de variância de duas vias entre os três fatores estudados também não evidenciou interação.

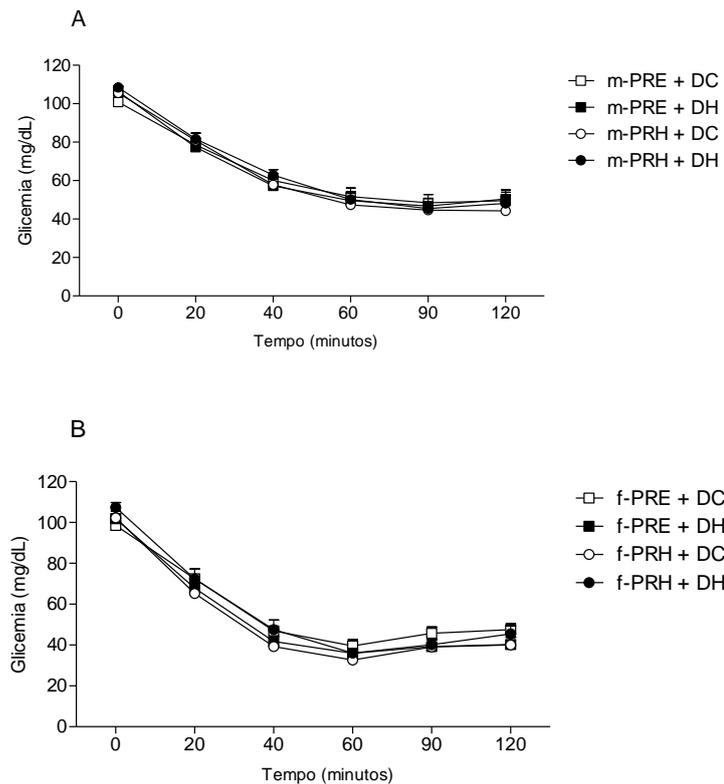


Figura 11. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no teste de tolerância à insulina aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). m- /f- PRE + DC: machos/ fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=9/ n=10, respectivamente; m- /f- PRE + DH: machos/ fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=10/ n=10, respectivamente; m- /f- PRH + DC: machos/fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=9/ n=8, respectivamente; m- /f- PRH + DH: machos/fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=11/ n=9, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de três vias. DPN: dia pós-natal.

Ao analisar o teste de tolerância à glicose, em ambos os sexos, aos 60 DPN (Figura 12) não foi observada interação em função dos fatores ‘tempo’, ‘dieta’ e ‘tratamento’ nos machos ($p = 0,92$) (Painel A). Entretanto, nas fêmeas (Painel B) observou-se interação tripla dos fatores estudados ($F_{(4,124)} = 3,65$, $p = 0,008$) e o pós-teste de Bonferroni evidenciou que a PRH + DH apresentou menor glicemia, aos 30 minutos, quando comparado a PRH + DC ($227,8 \pm 18,7$ versus $274,6 \pm 18,9$ mg/dL, $p = 0,03$) e a PRE + DH ($227,8 \pm 18,7$ versus $279,1 \pm 21,4$ mg/dL, $p = 0,002$).

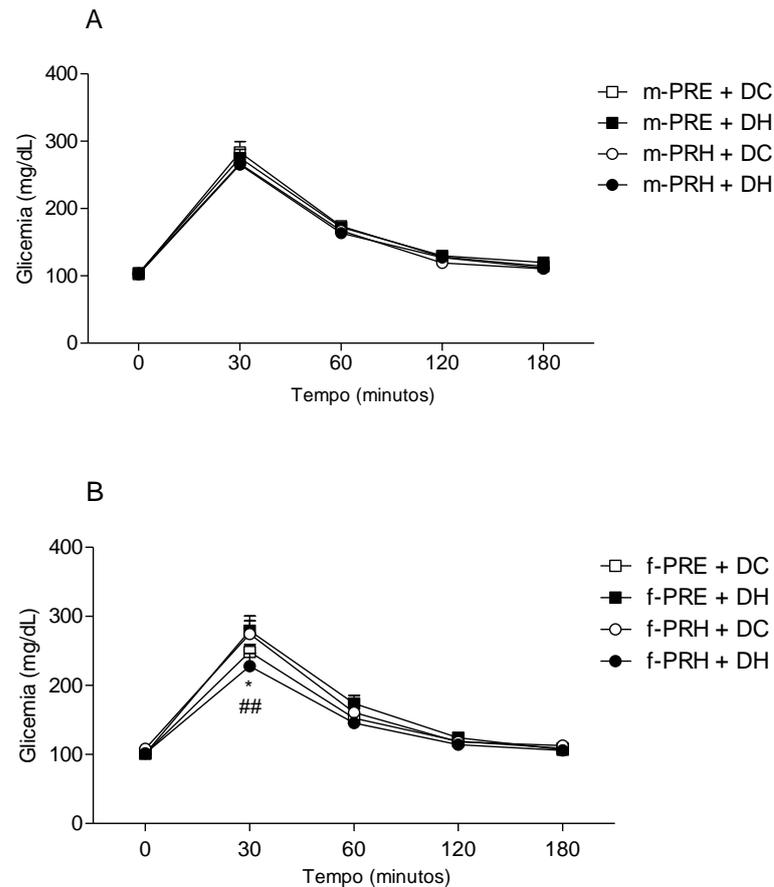


Figura 12. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no teste de tolerância à glicose aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). m- /f- PRE + DC: machos/ fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle, n=10/ n=10, respectivamente; m- /f- PRE + DH: machos/ fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=10/ n=9, respectivamente; m- /f- PRH + DC: machos/fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle, n=11/ n= 7, respectivamente; m- /f- PRH + DH: machos/ fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica, n=11/ n= 9, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de três vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Painel B: (*) $p < 0,05$ f- PRH + DH versus f- PRH + DC; (##) $p < 0,01$ f- PRH + DH versus f- PRE + DH. DPN: dia pós-natal.

A Figura 13 apresenta a glicemia de jejum da prole aos 60 DPN, na qual não foi verificada interação dos fatores ‘dieta’ e ‘tratamento’ nos machos ($p = 0,83$), assim como nas fêmeas ($p = 0,47$). Também não houve efeito significativo, em ambos os sexos, do ‘tratamento’ (para machos: $p = 0,85$; para fêmeas: $p = 0,39$) e da ‘dieta’ (para machos: $p = 0,73$; para fêmeas: $p = 0,42$), isoladamente.

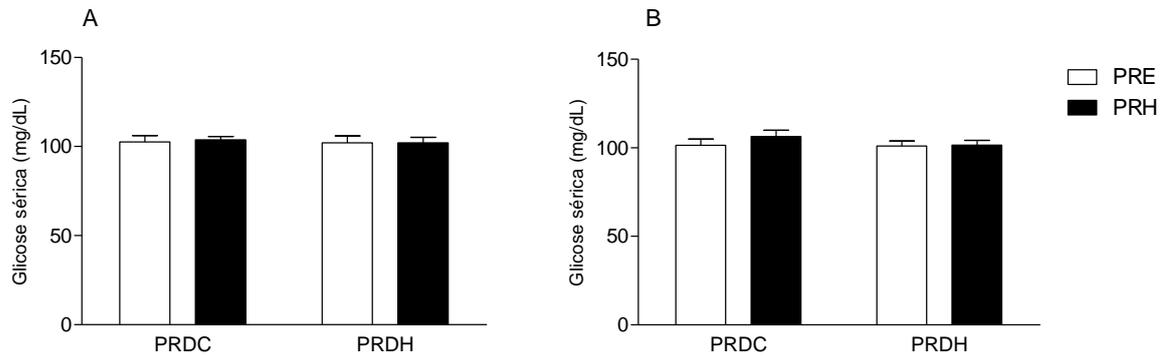


Figura 13. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na concentração de glicose sérica aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), n=11/ n=9, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC), n=11/ n=9, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), n=11/ n=9, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

Ao avaliar a concentração sérica de triglicérides, nos machos (Figura 14A), notou-se efeito do fator ‘dieta’ ($F_{(1,38)} = 9,97$, $p = 0,003$) e o pós-teste de Bonferroni evidenciou que os machos da PRH + DH apresentaram maior trigliceridemia quando comparados aos machos da PRH + DC ($190,89 \pm 8,10$ versus $144,10 \pm 9,92$ mg/dL, $p < 0,05$). Nas fêmeas (Figura 14B) foi observado efeito do fator ‘tratamento’ ($F_{(1,36)} = 12,44$, $p = 0,001$) e o pós-teste revelou que as fêmeas da PRH + DC apresentaram maior concentração de triglicérides quando comparadas as fêmeas da PRE + DC ($172,13 \pm 11,49$ versus $136,28 \pm 10,73$ mg/dL, $p < 0,05$).

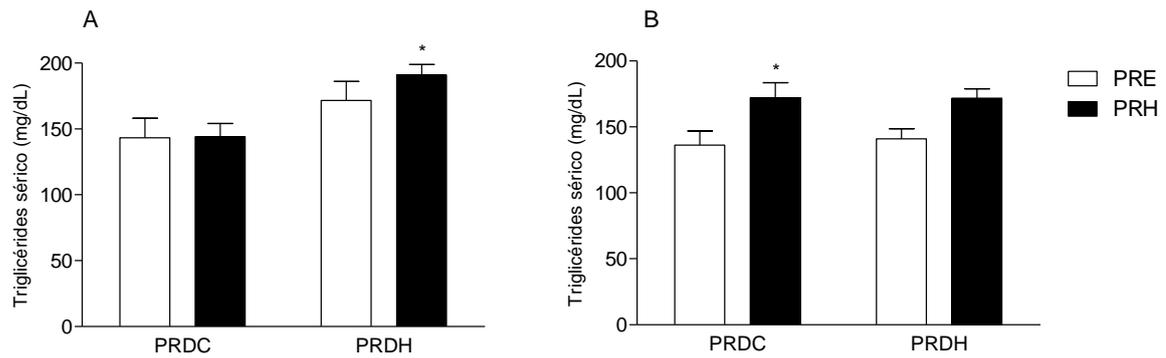


Figura 14. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no triglicérides sérico aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), n=12/ n=10, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Painel A: (*) p<0,05 m-PRH + DH versus m-PRH + DC; Painel B: (*) p<0,05 f-PRH + DC versus f-PRE + DC. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

A concentração sérica de colesterol aos 60 DPN em ambos os sexos está representado na Figura 15. Nos machos (Painel A), observou-se interação dos fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ ($F_{(1,37)} = 6,14$, $p = 0,02$) e efeito do fator ‘dieta’ ($F_{(1,37)} = 10,62$, $p = 0,002$). O pós-teste de Bonferroni mostrou que os machos da PRH + DH apresentaram maior colesterolemia quando comparado aos machos da PRH + DC ($78,63 \pm 4,19$ versus $51,36 \pm 7,13$ mg/dL, $p < 0,001$).

Nas fêmeas (Painel B) notou-se efeito dos fatores ‘dieta’ ($F_{(1,36)} = 13,25$, $p = 0,001$) e ‘tratamento’ ($F_{(1,36)} = 7,63$, $p = 0,01$), isoladamente, evidenciando que as fêmeas da PRE + DH apresentaram maior concentração de colesterol quando comparadas as fêmeas da PRE + DC ($83,16 \pm 6,10$ versus $59,10 \pm 6,81$ mg/dL, $p < 0,01$). Ademais, constatou-se, também, que as fêmeas da PRH + DC apresentou maior concentração de colesterol quando comparadas as fêmeas da PRE + DC ($78,20 \pm 4,75$ versus $59,10 \pm 6,81$ mg/dL, $p < 0,05$).

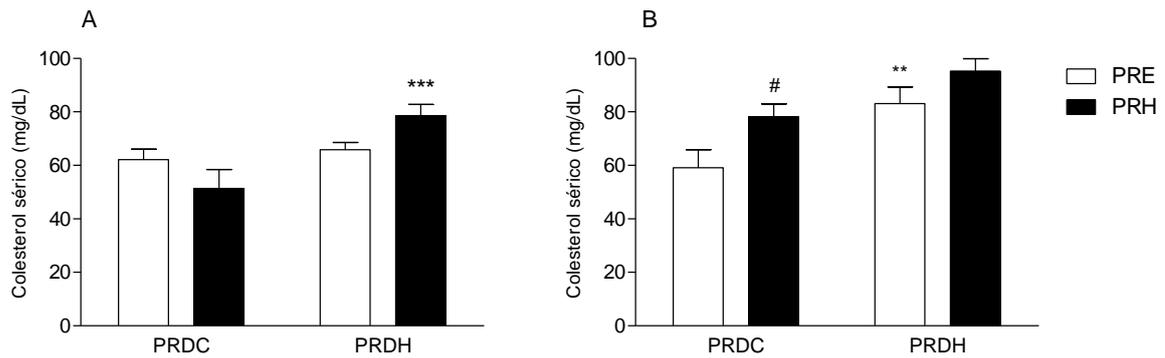


Figura 15. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no colesterol sérico aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), n=11 /n=10, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Painel A: (***) $p < 0,001$ m-PRH + DH *versus* m-PRH + DC; Painel B: (**) $p < 0,01$ f-PRE + DH *versus* f-PRE + DC; (#) $p < 0,05$ f-PRH + DC *versus* f-PRE + DC. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

A Figura 16 representa a concentração sérica de HDL em ambos os sexos. Nos machos foi observada interação dos fatores ‘dieta’ e ‘tratamento’ $F_{(1,38)} = 6,59$, $p = 0,01$) demonstrando que os machos da PRH + DC apresentaram menor concentração de HDL quando comparado aos machos da PRE + DC ($43,63 \pm 3,88$ *versus* $62,88 \pm 3,94$ mg/dL, $p < 0,05$). Nas fêmeas não foi observada diferença significativa para os fatores ‘dieta’ ($p = 0,21$) e ‘tratamento’ ($p = 0,06$), bem como não houve interação dos mesmos ($p = 0,13$).

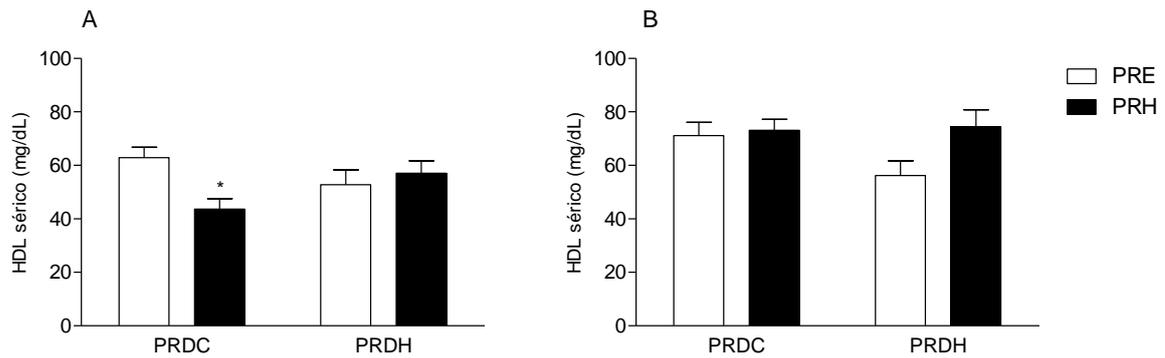


Figura 16. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no HDL sérico aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), n=12/ n=10, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Painel A: (*) $p < 0,05$ m-PRH + DC *versus* m-PRE + DC. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

Ao avaliar a ureia sérica dos machos (Figura 17B) observou-se efeito dos fatores ‘tratamento’ ($F_{(1,38)} = 10,04$, $p = 0,003$) e ‘dieta’ ($F_{(1,38)} = 26,65$, $p < 0,0001$), isoladamente, evidenciando que os machos da PRH + DH apresentaram maior concentração de ureia quando comparados aos machos da PRE + DH ($38,60 \pm 1,55$ *versus* $27,78 \pm 1,84$ mg/dL, $p < 0,01$) e a PRH + DC ($38,60 \pm 1,55$ *versus* $22,82 \pm 3,21$ mg/dL, $p < 0,001$). Nas fêmeas notou-se efeito apenas do fator ‘dieta’ ($F_{(1,36)} = 12,44$, $p = 0,001$) sendo que as fêmeas da PRE + DH apresentaram maior concentração de ureia quando comparadas as fêmeas da PRE + DC ($33,26 \pm 1,64$ *versus* $25,20 \pm 2,66$ mg/dL, $p < 0,05$).

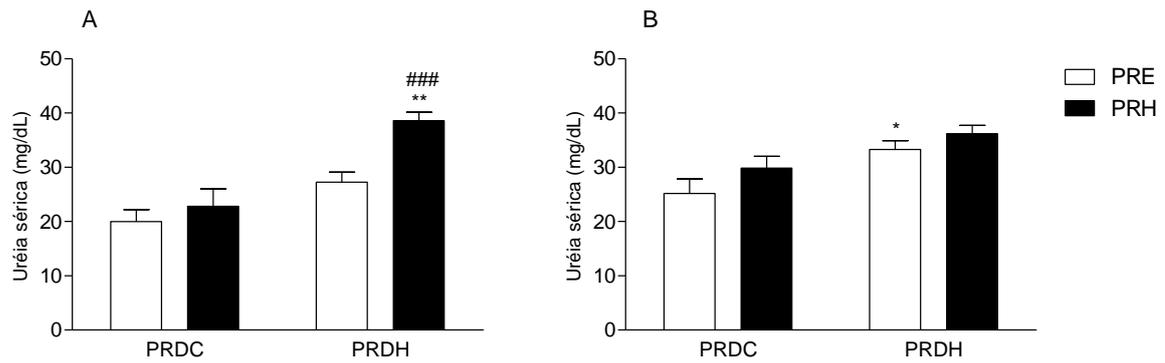


Figura 17. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica na ureia sérica aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), n=12/ n=10, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Painel A: (***) $p < 0,001$ m-PRH + DH versus m-PRH + DC; (***) $p < 0,001$ m-PRH + DH versus m-PRH + DC; Painel B: (*) $p < 0,05$ f-PRH + DH versus f-PRH + DC. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

A Figura 18 apresenta os valores de hematócrito de ambos os sexos aos 60 DPN. Nos machos (Painel A) observou-se interação dos fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ ($F_{(1,32)} = 6,42$, $p = 0,02$) evidenciando que os machos da PRH + DH apresentaram maior hematócrito quando comparados aos machos da PRE + DH ($43,32 \pm 0,30$ versus $39,83 \pm 0,67\%$, $p < 0,05$) e PRH + DC ($43,32 \pm 0,30$ versus $40,70 \pm 0,92\%$, $p < 0,05$). Nas fêmeas, Painel B, observou-se somente efeito do fator ‘dieta’ ($F_{(1,35)} = 10,84$, $p = 0,002$) no qual as fêmeas da PRH + DH apresentaram menor hematócrito quando comparadas as fêmeas da PRH + DC ($38,05 \pm 0,54$ versus $42,85 \pm 1,17\%$, $p < 0,01$).

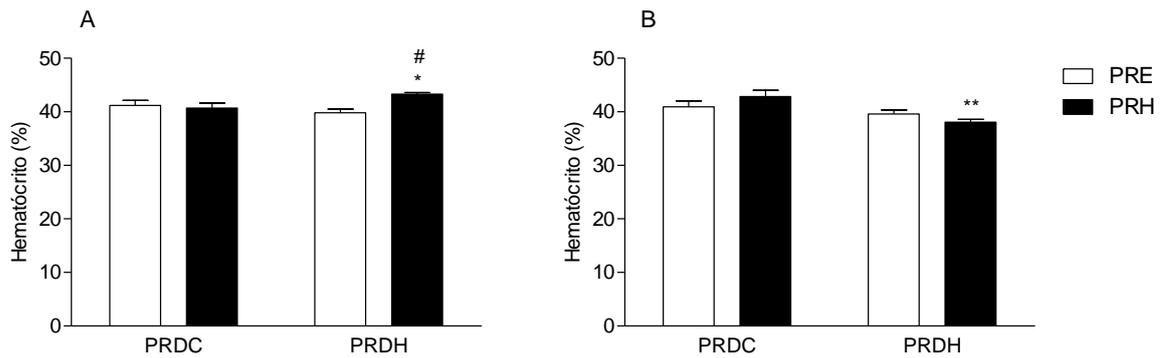


Figura 18. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no hematócrito aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoidianas submetidas à dieta controle (PRE + DC), n=9/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoidianas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), n=6/ n=9, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoidianas submetidas à dieta controle (PRH + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoidianas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), n=11/ n=10, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Painel A: (*) $p < 0,05$ m-PRH + DH *versus* m-PRE + DH; (#) $p < 0,05$ m-PRH + DH *versus* m-PRH + DC. Painel B: (**) f-PRH + DH *versus* f-PRH + DC. PRE: prole de ratas eutireoidianas; PRH: prole de ratas hipotireoidianas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

O peso do coração normalizado pelo comprimento da tíbia encontra-se na Figura 19. Não foi encontrada diferença significativa para os fatores ‘tratamento’ ($p = 0,53$) e ‘dieta’ ($p = 0,34$), isoladamente, ao avaliar o peso do coração normalizado nos machos (Painel A), assim como, não foi evidenciada interação dos fatores estudados ($p = 0,48$).

Nas fêmeas (Figura 19B), notou-se que a PRDH apresentou menor peso do coração quando comparada a PRDC [fator ‘dieta’ ($F_{(1,36)} = 6,36$, $p = 0,02$)]. Entretanto, não foi observada interação dos fatores estudados ($p = 0,10$), bem como não foi evidenciado efeito do fator ‘tratamento’ ($p = 0,37$), isoladamente.

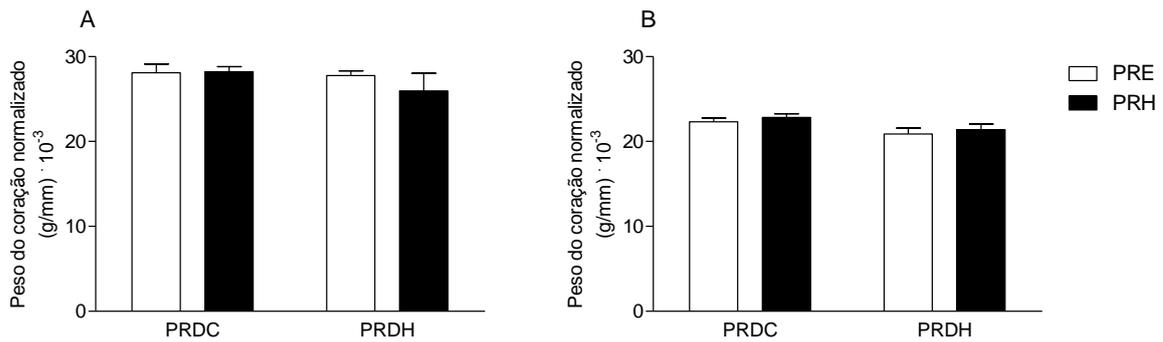


Figura 19. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso do coração normalizado pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC), n=9/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), n=11/ n=10, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

Ao analisar o peso do fígado normalizado pelo comprimento da tíbia (Figura 20) não foi encontrada interação dos fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ nos machos ($p = 0,97$) e nas fêmeas ($p = 0,67$). Também não foi encontrada diferença quando avaliado o efeito dos fatores ‘tratamento’ (para machos: $p = 0,57$; para fêmeas: $p = 0,21$) e ‘dieta’ (para machos: $p = 0,59$; para fêmeas: $p = 0,33$), isoladamente.

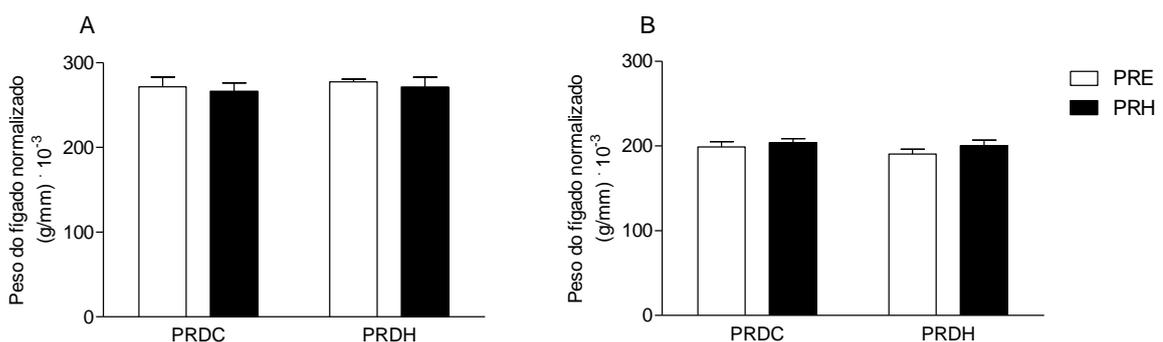


Figura 20. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso do fígado normalizado pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), n=10/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC), n=9/ n=10, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), n=11/ n=10, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

A Figura 21 representa o peso da gordura retroperitoneal normalizado pelo comprimento da tíbia. Nos machos (Painel A), observou-se que a PRH apresentou menor peso de gordura retroperitoneal quando comparada a PRE [fator ‘tratamento’ ($F_{(1,36)} = 5,20$, $p = 0,03$)]. Entretanto, não foi observada interação dos fatores estudados ($p = 0,86$), bem como não foi evidenciado efeito do fator ‘dieta’ ($p = 0,16$), isoladamente. Nas fêmeas (Painel B), não foi observada interação dos fatores estudados ($p = 0,78$), bem como não houve efeito dos fatores ‘tratamento’ ($p = 0,39$) e ‘dieta’ ($p = 0,09$).

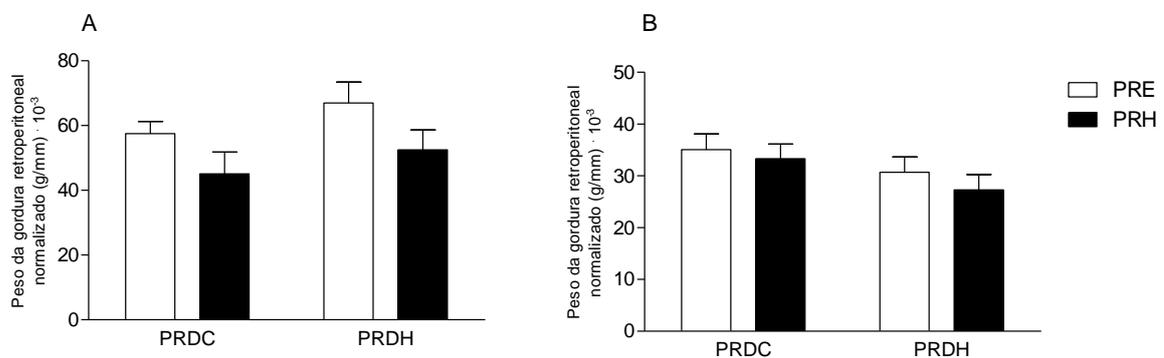


Figura 21. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso da gordura retroperitoneal normalizada pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta controle (PRE + DC), $n=10/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), $n=10/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta controle (PRH + DC), $n=9/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), $n=11/ n=10$, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. PRE: prole de ratas eutireoideanas; PRH: prole de ratas hipotireoideanas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

O peso dos rins normalizado pelo comprimento da tíbia está representado na Figura 22. A análise estatística de duas vias não evidenciou interação dos fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ ($p = 0,79$) nos machos (Painel A) e também não foi observado efeito dos fatores ‘tratamento’ ($p = 0,15$) e ‘dieta’ ($p = 0,45$), isoladamente. Nas fêmeas (Painel B) observou-se que a PRDH apresentou menor peso dos rins quando comparada a PRDC [fator ‘dieta’ ($F_{(1,36)} = 5,36$, $p = 0,03$)], porém não foi observada interação dos fatores estudados ($p = 0,68$), assim como não foi evidenciado efeito do fator ‘tratamento’ ($p = 0,84$), isoladamente.

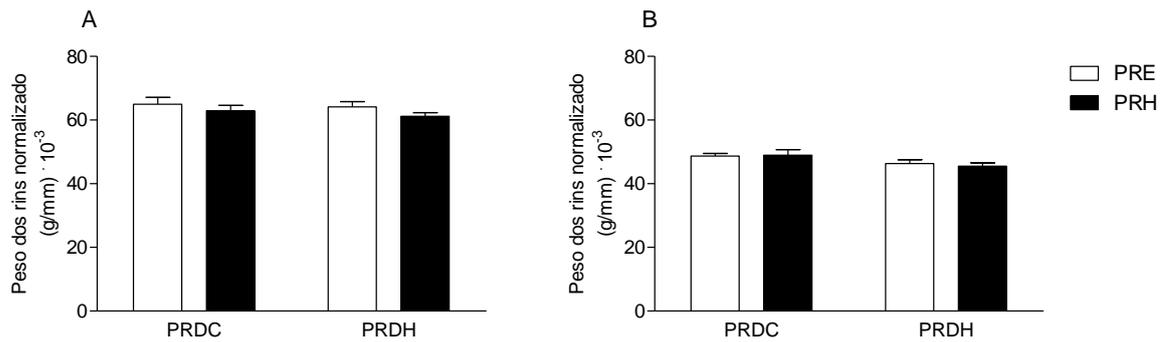


Figura 22. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso dos rins normalizado pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoidenas submetidas à dieta controle (PRE + DC), $n=10/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoidenas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), $n=10/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoidenas submetidas à dieta controle (PRH + DC), $n=9/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoidenas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), $n=11/ n=10$, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. PRE: prole de ratas eutireoidenas; PRH: prole de ratas hipotireoidenas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

A Figura 23 representa o peso do pulmão normalizado pelo comprimento da tíbia. Não se observou interação entre os fatores ‘tratamento’ e ‘dieta’ em ambos os sexos (para machos: $p = 0,56$; para fêmeas: $p = 0,05$). Além disso, também não foi observada diferença quando avaliado o efeito dos fatores ‘tratamento’ (para machos: $p = 0,15$; para fêmeas: $p = 0,09$) e ‘dieta’ (para machos: $p = 0,60$; para fêmeas: $p = 0,98$), isoladamente.

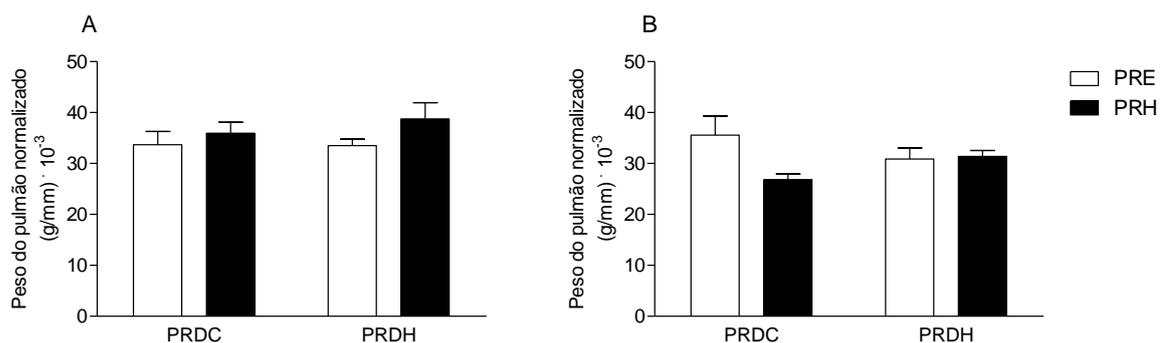


Figura 23. Efeito do hipotireoidismo gestacional experimental associado à dieta hiperlipídica no peso do pulmão normalizado pelo comprimento da tíbia aos 60 DPN nos machos (Painel A) e nas fêmeas (Painel B). Machos e fêmeas da prole de ratas eutireoidenas submetidas à dieta controle (PRE + DC), $n=10/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas eutireoidenas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH), $n=10/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoidenas submetidas à dieta controle (PRH + DC), $n=9/ n=10$, respectivamente; machos e fêmeas da prole de ratas hipotireoidenas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), $n=11/ n=10$, respectivamente. Análise estatística: ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. PRE: prole de ratas eutireoidenas; PRH: prole de ratas hipotireoidenas; PRDC: prole de ratas submetidas à dieta controle; PRDH: prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica. DPN: dia pós-natal.

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho demonstrou pela primeira vez que a carência de hormônios tireoideanos durante a gestação, especialmente quando em ratas com acesso a dieta hiperlipídica, causam, conjuntamente, importantes alterações no desenvolvimento orgânico, sobretudo nos sistemas de controle metabólico ao longo da vida pós-natal da prole, porém sem alterar o comportamento ingestivo de ração, água e sódio.

Ademais, trata-se de um modelo inédito que combina dois aspectos importantes: **i)** mimetiza o hipotireoidismo gestacional, doença de prevalência significativa, sub-notificada e negligenciada nos sistemas de saúde pública de diversos países, inclusive no Brasil; e **ii)** a ingestão elevada, em ‘livre demanda’, de alimentos gordurosos (i.e.: ‘saborosos’) especialmente em mulheres durante a gestação.

Antes de analisar e discutir os dados obtidos nas proles deste estudo faz-se necessário destacar as principais alterações provocadas nas ratas prenhas pelos distintos tratamentos.

Assim, no presente estudo foi evidenciado que ratas prenhas alimentadas com dieta hiperlipídica ingeriram menos ração durante a gestação. Ademais, a administração de metimazol (MTZ), para induzir hipotireoidismo gestacional experimental (HGE), reduziu a massa corporal das ratas somente ao final da gestação. Além disso, a associação da dieta hiperlipídica com o hipotireoidismo gestacional não alterou a duração da gestação e o número de filhotes por ninhada.

Shibutani et al. (2009), por meio da administração de MTZ a 0,02% do 10º ao 20º dia de gestação (DG), e Alves et al. (2013), utilizando o mesmo protocolo de indução de HGE realizado neste trabalho, não observaram alteração na massa corporal das ratas prenhas durante a gestação. Entretanto, Lasley e Gilbert (2011), induziram hipotireoidismo pela administração de propiltiouracil (PTU) a uma concentração de 0,001% e evidenciaram redução da massa corporal das ratas tratadas no final da gestação (20º DG), corroborando o achado do presente estudo (Figura 4A). Deve-se ressaltar, porém, que no estudo de Alves et al. (2013), diferentemente do presente estudo, as ratas prenhas foram alimentadas com dieta comercial para roedores, ao passo que aqui se utilizou dietas hiperlipídica e controle.

Como esperado, a melhor palatabilidade da dieta hiperlipídica (DH) pode ter resultado na elevação da quantidade de ração ingerida no primeiro dia de oferta (i.e.: no 3º DG), o que foi rapidamente revertido a partir do 7º DG, quando os mecanismos regulatórios de fome e saciedade parecem calibrar a quantidade de alimento a ser ingerido pelo teor de calorias e/ou proteínas da ração ingerida. Isto pode ser observado na Tabela 6. Entretanto, observa-se ainda que no final da gestação (ao 20º DG), quando naturalmente o volume de dieta ingerida está reduzido por consequência da expansão abdominal, ambos os grupos de ratas apresentam ingestão similarmente mais baixa de ração (Figura 5A).

Na mesma direção, ao avaliar a ingestão cumulativa de ração do 3º ao 20º DG (Figura 5B), observou-se que a dieta hiperlipídica é ingerida em menor quantidade que a controle, porém a quantidade de calorias e proteínas são similares nos animais sob diferentes dietas e com mesmo tratamento (Tabela 6). Contrariamente, Cerf et al. (2005), observaram maior ingestão de ração durante a gestação em ratas que receberam dieta hiperlipídica (40% de lipídeo) durante este período. Entretanto, Taylor et al. (2003), observaram que ratas submetidas à dieta hiperlipídica desde 10 dias antes do acasalamento e durante toda a gestação, ingeriram menos ração durante o período gestacional, corroborando o dado encontrado nesse estudo. Adicionalmente, Del Prado, Delgado e Villalpando (1997) avaliaram ratas prenhas submetidas à dieta hiperlipídica (40% de lipídeos) e não observaram diferença na ingestão calórica e na massa corporal durante a gestação corroborando os dados encontrados nesse estudo (Tabela 6 e Figura 4, respectivamente).

Assim, acredita-se que as ratas submetidas à dieta hiperlipídica possam ajustar a ingestão alimentar com o objetivo de fornecer quantidade de energia similar à dieta controle (FÉREZOU-VIALA et al., 2007) e, como consequência, manter o balanço energético (JACKMAN; MACLEAN; BESSESEN, 2010). Já está bem evidenciado na literatura que a presença de lipídeos e/ou proteínas no intestino estimula a liberação de colecistocinina (SAVASTANO; COVASA, 2005; LENARD; BERTHOUD, 2008). Este peptídeo, por sua vez, desempenha inúmeras funções que estão associadas ao controle da ingestão alimentar, dentre elas retarda o esvaziamento gástrico (RAYBOULD et al., 1998) e está associado à sinalização da saciedade, pois atua no núcleo arqueado, tanto por estimulação de nervos periféricos quanto diretamente através da corrente sanguínea, promovendo a liberação de peptídeos anorexigênicos (LENARD; BERTHOUD, 2008; VALASSI; SCACCHI; CAVAGNINI, 2008).

Hapon et al. (2003), por meio da administração de PTU na água de beber em ratas oito dias antes do acasalamento, identificaram aumento no tempo de gestação das ratas tratadas. Entretanto, Alves et al. (2013), utilizando o mesmo protocolo de indução de hipotireoidismo do presente estudo, não evidenciaram diferença na duração da gestação, corroborando os dados encontrados (Tabela 7).

A associação do hipotireoidismo gestacional com a dieta hiperlipídica não afetou o número de filhotes por rata (Tabela 7). Este achado foi similar ao encontrado por Shibutani et al. (2009), que induziram hipotireoidismo com MTZ (0,02%) do 10º DG ao 20º dia pós-natal (DPN), e por Negishi et al. (2005) que utilizaram PTU (10 mg/kg) em ratas prenhas do 3º DG até o final da lactação (20 DPN). Os dados ainda estão de acordo com o encontrado por Guo e Jen (1995) e Taylor et al. (2003), que também não encontraram diferença no número de filhotes por ninhada de ratas submetidas à dieta hiperlipídica.

Jahagirdar et al. (2012) utilizaram MTZ (0,02%) e perclorato de potássio (0,1%) na água de beber das ratas prenhas do 9º DG ao final da gestação e observaram redução na concentração de tiroxina (T4) total. Ahmed et al. (2012) induziram o hipotireoidismo por meio da administração de MTZ (0,02%) na água de beber do 1º DG ao 21º DPN e evidenciaram menor concentração de triiodotironina (T3) e T4 totais no 10º DG e no 10º DPN. Adicionalmente, Alves et al. (2013) utilizando o mesmo protocolo para indução de hipotireoidismo gestacional do presente estudo observaram redução da concentração sérica de T3 e T4 totais no 21º DG. Assim, apesar de não ter sido realizada dosagem dos hormônios tireoideanos maternos nos animais deste estudo, pode-se inferir que o protocolo utilizado foi capaz de induzir o hipotireoidismo nas ratas prenhas, como previamente demonstrado por Alves et al. (2013).

O ambiente intrauterino apresenta-se como uma fase crítica no desenvolvimento fetal, na qual, alterações do mesmo durante a gestação podem gerar repercussões na vida pós-natal de curto, médio e longo prazo na prole (FOWDEN et al., 2006). Diversos estudos mostram que tanto o hipotireoidismo quanto modificações na composição dos macronutrientes da dieta durante a gestação e/ou lactação estão associados a doenças como hipertensão, doenças cardiovasculares e alterações endócrinas na vida pós-natal da prole (SCHALOCK; BROWN; SMITH, 1977; HADDOW et al., 1999; DOWLING; IANNACONE; ZOELLER, 2001; BAUTISTA et al., 2008; WHITE; PURPERA; MORRISON, 2009; VAN STRATEN et al., 2012). Contudo, não foi encontrada na literatura

qualquer estudo que associasse o hipotireoidismo gestacional e a dieta hiperlipídica durante o período gestacional e avaliasse suas repercussões na prole.

Vale ressaltar que apesar de não ter sido realizada dosagem dos hormônios tireoideanos na prole, Alves et al. (2013) utilizando o mesmo protocolo de indução de hipotireoidismo do presente estudo, mas sem alteração dietética, constataram que a prole de ratas hipotireoideanas (PRH) não apresentou alteração na concentração sérica dos hormônios tireoideanos aos 15 e 30 DPN. Assim, parte-se do pressuposto que o protocolo para indução de hipotireoidismo gestacional utilizado nesse estudo não afetou o *status* tireoideano da prole, pelo menos no início da vida pós-natal. Isto não descarta, porém, a possível ocorrência de hiper- e/ou hipotireoidismo extra-tireoideano.

A análise da ingestão alimentar constitui um importante indicador de fator de risco nutricional, bem como é fundamental para detectar carências dietéticas (SHARIFIRAD et al., 2013). No presente trabalho, o comportamento ingestivo da prole foi monitorado desde a lactação até a vida adulta. Aos 5 DPN, pode-se observar que a prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica (PRDH) ingeriu mais leite (Figura 9A). Este achado está em consonância com o dado encontrado por Purcell et al. (2011) que observaram maior ingestão de leite no 7º DPN na prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica (60% de lipídeos). Porém, diferentemente do presente estudo, estes autores ofereceram a dieta hiperlipídica durante todo o período perinatal, do 2º DG ao final da lactação, enquanto em nosso estudo esta oferta foi restrita a gestação.

O estado nutricional e a dieta materna podem influenciar a composição nutricional do leite materno, de tal modo que ratas alimentadas com dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação ou ratas obesas apresentam maior conteúdo de gordura no leite (DEL PRADO; DELGADO; VILLALPANDO, 1997; GORSKI, 2006; SCHROEDER et al., 2009). Apesar do protocolo utilizado no presente estudo apresentar a dieta hiperlipídica exclusivamente no período gestacional, acredita-se que a modificação dietética à qual as ratas foram submetidas, durante a gestação, possa ter promovido variação nas propriedades nutricionais e bioativas do leite materno resultando em aumento na ingestão na PRDH. Além disso, não podemos descartar a hipótese de que a oferta da dieta hiperlipídica, durante o período estudado, tenha promovido, em curto prazo, alteração nos mecanismos reguladores da fome/saciedade.

O registro contínuo da massa corporal, como indicador do desenvolvimento corporal, é amplamente utilizado por ser um método simples, de baixo custo e não invasivo. Os achados deste trabalho mostram que a prole de ratas eutireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRE + DH) apresentou maior massa corporal (Figura 6A).

Já está bem evidenciado na literatura que a prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica apresenta maior massa corporal ao longo da vida pós-natal (CHANG et al., 2008; WHITE; PURPERA; MORRISON, 2009; DUNN; BALE, 2009; DAHLHOFF et al., 2013). Entretanto, no presente estudo observou-se que a PRE + DH apresentou maior massa corporal somente no início da vida pós-natal. Uma possível justificativa para este fato pode ser a maior ingestão alimentar, visto que essa prole ingeriu mais leite aos 15 DPN (Figura 9B) e não foi realizada análise da ingestão de ração do desmame ao 29° DPN. Além disso, pode ser que o tempo de exposição das ratas prenhas à dieta, bem como a composição nutricional utilizada neste protocolo, não tenha sido capaz de promover alteração no desenvolvimento corporal, a longo prazo, na PRE + DH.

Ademais, a massa corporal da prole também foi avaliada do 37° ao 120° DPN (Figuras 6B e 6C). Apesar dos diferentes protocolos utilizados para indução do hipotireoidismo na gestação e/ou lactação, já está bem evidenciada a diminuição da massa corporal na prole de ratas submetidas a este tratamento (SCHALOCK; BROWN; SMITH, 1977; HAPON et al., 2003; DARBRA et al., 2004). Similarmente, no presente estudo, observou-se menor massa corporal apenas nos machos da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica (PRH + DH), a partir do 44° DPN. Porém, Brosvic, Taylor e Dihoff (2002) e Van Wijk, Rijntjes e Van de Heijning (2008) utilizando diferentes protocolos para indução de hipotireoidismo evidenciaram redução da massa corporal tanto nos machos quanto nas fêmeas da prole de ratas tratadas.

A homeostase energética depende de um integrado sistema neuro-humoral que previne grandes flutuações no balanço energético. Este, por sua vez, é modulado através da energia ingerida (ingestão e absorção dos macronutrientes) e da energia gasta (termogênese obrigatória e facultativa) (ARAUJO; CARVALHO, 2011). No presente estudo, apesar dos machos da PRH + DH apresentarem menor massa corporal a partir do 44° DPN não foi observada diferença na ingestão de ração dos 30 DPN aos 120 DPN entre os machos dos grupos estudados (Figura 10B). Com isso, sugere-se que essa prole apresente uma maior termogênese obrigatória, visto que, os animais foram submetidos às mesmas condições

(temperatura e dieta) e não apresentaram diferença na quantidade de ração consumida. Outra possibilidade para justificar tal achado, é a ocorrência de um déficit no processo de digestão e absorção dos nutrientes presentes na ração, entretanto, esta hipótese precisa ser melhor investigada.

A ação dos hormônios tireoideanos no metabolismo basal está associada a mecanismos que envolvem o *turnover* de ATP e consequente liberação de calor como, por exemplo: a regulação da expressão e da atividade da bomba de sódio-potássio; dos ciclos metabólicos como glicogenólise/glicogênese, lipólise/lipogênese; da contração e relaxamento muscular, particularmente os batimentos cardíacos, movimentos respiratórios, peristaltismo, entre outros (BIANCO, 2000). Como consequência, não há como inferir uma única via como principal responsável pelos efeitos termogênicos. Diante disso, sugerimos algumas possibilidades que podem justificar o provável estado hipermetabólico encontrado na PRH + DH.

As desidases são um grupo de enzimas que apresentam importante papel na regulação local da atividade dos hormônios tireoideanos e possuem características distintas, tais como, localização, distribuição tecidual, resposta à concentração dos hormônios tireoideanos, entre outras (KÖHRLE et al., 2005; BIANCO; KIM, 2006). A desidase do tipo 1 (D1), por exemplo, está localizada na membrana plasmática e pode tanto ativar quanto inativar o T4. Já a desidase do tipo 2 (D2), localizada no retículo endoplasmático, é a principal ativadora do T4 e a desidase do tipo 3 (D3), localizada na membrana plasmática é a principal inativadora do T3 (BIANCO et al., 2002).

No estudo realizado por Capelo et al. (2008) foi observado aumento na expressão do RNAm da D2 fetal no 14º DG e no 16º DG e houve aumento da atividade da mesma ao 18º DG, apesar de não ter sido evidenciada alteração na expressão de RNAm nesse tempo. Além disso, notou-se menor expressão do RNAm da D3 somente no 14º DG e uma redução de sua atividade no 18º DG na prole de ratas induzidas ao hipotireoidismo por meio da administração de MTZ (0,05%) do 1º DG ao 5º DG e MTZ (0,1%) e perclorato de sódio (1%) do 6º DG até o 35º DPN na água de beber.

Dessa forma, é possível que devido às baixas concentrações dos hormônios tireoideanos às quais o feto foi submetido, tenha ocorrido uma alteração na expressão e/ou atividade das desidases, com o objetivo de manter a concentração desses hormônios durante a vida intrauterina. Além disso, ao que parece, neste trabalho, esta resposta parece ter sido

potencializada quando o feto foi submetido também à dieta hiperlipídica, visto que a maior massa corporal foi encontrada, nesse estudo, somente nos machos da prole de ratas hipotireoideanas submetidas à dieta hiperlipídica. Assim, como consequência dessa reprogramação, pode ter ocorrido aumento da concentração de T3 tecidual, devido à maior expressão de D2 e/ou D1, em órgãos chave no metabolismo, como o músculo esquelético e o tecido adiposo marrom, aspectos estes que podem justificar o possível estado hipermetabólico dessa prole. Curiosamente, nesse estudo, essa possível resposta adaptativa foi observada somente nos machos da prole de ratas.

Sob o aspecto da modulação autonômica no metabolismo, vale salientar que o sistema nervoso simpático (SNS) exerce reconhecida influência na termogênese facultativa (induzida pela exposição ao frio ou ingestão de dieta hiperlipídica) (CASTILLO et al., 2011). O SNS atua principalmente estimulando o tecido adiposo marrom e a atividade da proteína desacopladora de elétrons (UCP), além de estimular a transcrição da D2, potencializando a ação dos hormônios tireoideanos (BIANCO; SILVA, 1987). Slotkin e Slepetis (1984) observaram alteração nas vias simpáticas para o coração na prole de ratas induzidas ao hipotireoidismo. Adicionalmente, Prior et al. (2010) demonstraram aumento na atividade simpática nos rins em coelhos alimentados com dieta hiperlipídica por 4 semanas. Assim, é possível que a associação do hipotireoidismo gestacional com a dieta hiperlipídica durante a gestação tenha promovido um aumento da atividade simpática em órgãos chave do metabolismo e por isso os machos dessa prole apresentam uma menor massa corporal.

Ainda com relação ao desenvolvimento corporal da prole, foi observado um déficit no comprimento da cauda da PRH aos 30 DPN (Figura 7A). A partir do 37º DPN esta redução foi observada somente nos machos dessa mesma prole (Figura 7C). Similar a este achado, Santana-Farré et al. (2012) observaram redução no comprimento da cauda a partir da segunda semana de vida da prole de ratas tratadas com MTZ (0,02%) do 12º DG ao 30º DPN. Ademais, Capelo et al. (2008) observaram um retardo no comprimento, a partir do 7º DPN, da prole de ratas induzidas ao hipotireoidismo por meio da administração de MTZ (0,05%) do 1º DG ao 5º DG e MTZ (0,1%) e perclorato de sódio (1%) do 6º DG até o 35º DPN na água de beber.

A PRDH apresentou maior comprimento da cauda somente do 14º DPN ao 30º DPN (Figura 7B). Dunn e Bale (2009) submeteram ratas à dieta hiperlipídica (45% de lipídeos), 4 semanas antes do acasalamento até o desmame, e observaram que a prole apresentou maior

comprimento aos 120 DPN. Entretanto, Dahlhoff et al. (2013) não observaram diferença no comprimento, aos 5 e 9 meses, tanto em machos quanto em fêmeas da prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica (60% de lipídeos) durante o período pré-gestacional (3^a a 12^a semana de vida das ratas) e durante toda a gestação.

Com base nesses achados, pode-se inferir que os machos da PRH apresentam prejuízo no crescimento e a associação com a dieta hiperlipídica promoveu, também, redução na massa corporal demonstrando um déficit no desenvolvimento corporal dos machos da PRH + DH. Entretanto, as fêmeas parecem apresentar um fator protetor e/ou apresentam uma programação diferenciada, visto que não foram observadas alterações na massa corporal e no comprimento da cauda das fêmeas, durante o período estudado. Estudos têm mostrado que insultos durante a gestação e/ou lactação podem apresentar diferentes respostas a depender do gênero da prole (EL AKOUM et al., 2011; ORNELLAS et al., 2013).

Outro parâmetro, utilizado no presente estudo, para avaliar o desenvolvimento da prole foi a abertura ocular. Alves et al. (2013), com o mesmo protocolo de indução de hipotireoidismo gestacional, mas sem alteração dietética, observaram retardo na abertura ocular da prole de ratas hipotireoideanas, dado similar ao encontrado no presente estudo, no qual a PRH + DH apresentou retardo na abertura ocular (Figura 8). No mesmo sentido, Alm et al. (1988), ao estudar animais tratados com T4 (0,4 µg/ g) do 0 DPN ao 6^o DPN, para indução do hipertireoidismo, observaram uma abertura ocular precoce.

Os hormônios tireoideanos interagem com vários fatores de crescimento, dentre eles o fator de crescimento epidérmico. Já foi comprovado que este fator de crescimento antecipa a abertura ocular em ratos (COHEN, 1962; COHEN; CARPENTER, 1975). Assim, é possível que os animais PRH possam apresentar diminuição na concentração do fator de crescimento epidérmico e/ou redução na expressão de seus receptores, o que, neste modelo, parece só se expressar quando associado à dieta hiperlipídica. Sobretudo, vale ressaltar que não foram encontrados dados na literatura que sustentem uma correlação direta entre a dieta hiperlipídica, durante a vida intrauterina, e o tempo de abertura ocular de ratos. Portanto, esta é a primeira evidência de que a associação entre dieta hiperlipídica e hipotireoidismo gestacional retarda o desenvolvimento dos mecanismos deflagradores da abertura dos olhos na prole de ratas, aqui considerado um importante indicador de desenvolvimento do organismo.

Ao avaliar o perfil bioquímico da prole aos 60 DPN, observou-se que, tanto no teste de tolerância à insulina (TTI) quanto no teste de tolerância à glicose (TTG), os machos apresentaram respostas semelhantes nos grupos estudados (Figuras 11A e 12A, respectivamente). Além disso, também não foi observada diferença na glicemia de jejum desses animais (Figura 13A). Estes achados estão parcialmente de acordo com dados prévios deste grupo de pesquisa. Em seu estudo, similarmente a este achado, GAUJAC (2013) verificou a inexistência de diferença na glicemia de machos da PRH submetidos ao TTG, quando comparados a machos da PRE. Porém, a glicemia destes mesmos animais foi menor ao TTI. Neste caso, devem-se considerar dois aspectos que diferem ambos os estudos: **i)** GAUJAC (2013) avaliou animais aos 120 DPN, ao passo que aqui a análise fora feita aos 60 DPN, e, **ii)** em seu estudo, GAUJAC (2013) ofereceu às ratas gestantes dieta comercial padrão (Labina), enquanto neste trabalho foi oferecida dieta especialmente formulada com alto teor lipídico (hiperlipídica) ou controle. Levando-se em conta os dados deste trabalho, em contraponto aos de GAUJAC (2013), utilizando o mesmo modelo de HGE, verifica-se uma provável influência da idade em que os animais são estudados e/ou da dieta oferecida às gestantes, sobre a variável estudada (glicemia durante o TTI) na prole. Em outras palavras, o modelo de HGE parece influenciar de modo distinto a resposta ao TTI, em machos da prole, ao longo da vida pós-natal.

Adicionalmente, achados de outro grupo (BUCKLEY et al., 2005), utilizando dieta com teor ainda mais alto de lipídeo, também não apontam diferença na glicemia de jejum e no TTG dos machos da prole com 3 meses de idade. Esses pesquisadores ofereceram dieta hiperlipídica (59% de lipídeos) desde 4 meses antes do acasalamento e durante toda a gestação. Ademais, Karbalaie et al. (2013) induziram hipotireoidismo gestacional (PTU 0,02%) do 1ºDG até o parto e não observaram diferença na glicemia de jejum, mas notaram uma maior glicemia da prole quando submetidas ao TTG aos 5 meses de idade.

No TTG das fêmeas, observou-se que a PRH + DH apresentou maior sensibilidade a glicose aos 30 minutos, visto que foi observada uma menor glicemia neste tempo, após a administração de glicose (Figura 12B). Entretanto, não foi observada diferença, entre os grupos, no TTI e na glicemia de jejum (Figuras 11B e 13B, respectivamente).

É consagrado na literatura que as células beta pancreáticas funcionam como um sensor dos níveis de glicose plasmático e são fundamentais para o metabolismo da glicose secundário à secreção de insulina (JONES; OZANNE, 2009). A secreção de insulina está

associada a uma série de mecanismos celulares e possui como controlador primário a capacidade dessas células em responder ao estímulo pela glicose, devido a presença de proteínas integrais de membrana, denominadas transportadores de glicose tipo 2 (GLUT 2) (MATSCHINSKY, 1996).

Cerf et al. (2009) ao avaliar a expressão de GLUT 2 no pâncreas dos neonatos cujas mães foram submetidas à dieta hiperlipídica (40% de lipídeos) durante a gestação observaram uma tendência a maior expressão desse transportador. Dessa forma, é possível que as fêmeas da PRH + DH apresentem maior expressão do GLUT 2 e por conta disso, as fêmeas dessa prole apresentaram uma melhor sensibilidade a alteração na concentração plasmática de glicose.

Assim, pontualmente, os dados obtidos no TTI mostram não haver diferença na sensibilidade periférica (i.e. nas células-alvo) a ação da insulina exógena, porém, a menor glicemia observada nas fêmeas da PRH + DH, em resposta ao TTG, traduz uma provável maior sensibilidade das células beta à injeção de glicose exógena. Isto se deve, provavelmente, por alterações na expressão e/ou atividade do GLUT 2 ou da enzima glicoquinase, fundamental para converter a glicose em glicose-6-fosfato no interior da célula beta.

A avaliação dos lipídeos plasmáticos é fundamental na detecção de risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares e dislipidemias (GOHARKHAY et al., 2008). Por isso, realizou-se a avaliação do perfil lipídico da prole aos 60 DPN e constatou-se que os machos da PRH + DH apresentaram hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia (Figuras 14A e 15A, respectivamente). Além disso, foi evidenciado menor concentração de HDL nos machos da PRH + DC (Figura 16A).

Ainda em relação ao metabolismo de lipídeos, observou-se que as fêmeas da PRH + DC apresentaram maiores concentrações de triglicérides e colesterol (Figuras 14B e 15B, respectivamente). Além disso, observou-se que as fêmeas da PRE + DH também apresentaram hipertrigliceridemia quando comparadas às fêmeas da PRE + DC (Figura 14B).

O fígado é o órgão chave na regulação do metabolismo lipídico, pois atua na síntese de triglicérides, colesterol e das lipoproteínas. Apesar de não ter encontrado diferença no peso normalizado do fígado entre os grupos estudados (Figura 20), sabe-se que os hormônios tireoideanos regulam o metabolismo dos lipídeos atuando em diversos pontos da cadeia

metabólica. Por exemplo, regulam a expressão, de enzimas fundamentais na homeostase do colesterol, como a 3-hidroxi-3metilglutaril-CoA-redutase – HMG-CoA redutase, do receptor de LDL, da colesterol 7 α -hidroxilase, e na lipogênese como a ácido graxo sintase, bem como de genes envolvidos na produção hepática de triglicérides (NESS; LOPEZ, 1995; DUNTAS, 2002; MUKHOPADHYAY et al., 2003; HAPON, 2005).

Ademais, a dieta hiperlipídica, especialmente rica em ácidos graxos saturados, também pode promover alteração na expressão de enzimas fundamentais para a manutenção da homeostase lipídica, tais como a proteína de ligação ao elemento de resposta ao esteroide (SREBP), resultando em alteração no metabolismo lipídico (BROWN et al., 1990; GREGORIO et al., 2010; ORNELLAS et al., 2013). Assim, é possível que possa ter ocorrido uma reprogramação em pontos cruciais do metabolismo lipídico, como na expressão e/ou atividade das enzimas supracitadas, que tenham promovido às alterações no perfil lipídico encontradas nesse estudo. Além disso, a programação fetal parece ocorrer de forma diferenciada a depender do gênero da prole.

Quanto ao metabolismo proteico, foi avaliada a concentração de ureia em ambos os gêneros aos 60 DPN. Observou-se maior concentração de ureia nos machos da PRH + DH (Figura 17A).

Diante dos achados encontrados no presente estudo podemos sugerir que a hiperuremia encontrada nos machos da PRH + DH seja resultado do aumentado catabolismo proteico (uremia pré-renal) e/ou de um déficit na excreção renal de ureia (uremia renal). Quanto a hipótese do catabolismo proteico aumentado, podemos associar a menor massa corporal observada nos animais deste grupo, que pode ser resultado de reduzida massa magra. No que tange a teoria da hiperuremia renal, não temos dados, neste momento, que a sustentem. Ao contrário, não foi observada nenhuma diferença no único parâmetro avaliado, o peso normalizado dos rins (Figura 22). Portanto, outras abordagens se fazem necessárias para que se chegue a uma conclusão mais contundente.

Também constituiu o escopo do presente trabalho verificar o *status* de hidratação da prole dos grupos experimentais, para tanto utilizamos o percentual de hematócrito. Ao analisar esse marcador, aos 60 DPN, observou-se que os machos da PRH + DH apresentaram maior hematócrito, o que traduz uma provável condição de desidratação (Figura 18A). Esse aumento na taxa de hematócrito, sem alteração no volume ingerido de água (Figura 10C), nos leva a pensar num possível reajuste no *set point* do sistema de regulação hidroeletrólítica dos

machos da PRH + DH, visto que esse indício de desidratação seria um sinal excitatório para deflagrar a resposta comportamental de sede no intuito de restaurar o balanço hídrico corporal.

Ademais, outra possível justificativa para o hematócrito elevado dos machos da PRH + DH, como encontrado no presente estudo, é o aumento na produção de hemácias pela medula óssea (eritropoiese). No entanto não foram encontrados estudos que associassem o hipotireoidismo gestacional e/ou a dieta hiperlipídica a esse mecanismo. Contrariamente, no estudo de Shrader et al. (1982) e Gomes et al. (2004) foi observada uma redução na hemoglobina de ratas induzidas ao hipotireoidismo. Além disso, como encontrado nos achados acima, a PRH + DH parece ser reprogramada de maneira diferenciada a depender do gênero. Portanto, os resultados obtidos neste trabalho abrem novas perspectivas de estudo para a descoberta da etiologia de diversas doenças metabólicas sem causa conhecida.

Em suma, os resultados encontrados nesse estudo demonstram que a associação do hipotireoidismo gestacional e da dieta hiperlipídica, rica em ácidos graxos saturados, pode promover modificações importantes no desenvolvimento e no metabolismo da prole, especialmente nos machos. Além disso, esse estudo fornece perspectivas para futuros trabalhos com o objetivo de investigar os mecanismos associados às alterações encontradas.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados no presente estudo, podemos concluir que as ratas hipotireoideanas apresentaram menor massa corporal ao final da gestação e as ratas submetidas à dieta hiperlipídica apresentaram menor ingestão cumulativa de ração durante o período estudado. Além disso, a associação entre o hipotireoidismo gestacional e a dieta hiperlipídica não promoveu alterações no tempo de gestação e no número de filhotes por ninhada.

Na prole, observou-se que a associação do hipotireoidismo à dieta hiperlipídica, exclusivamente durante o período gestacional, promoveu déficit no desenvolvimento e importantes alterações no perfil lipídico, ureia sérica e hematócrito, principalmente nos machos. Entretanto, não houve alteração na homeostase glicêmica, nos machos, e quando avaliado, este parâmetro, nas fêmeas, observou-se que as fêmeas, dessa prole, apresentaram maior sensibilidade à glicose, somente, aos 30 minutos. Quanto ao peso dos órgãos (coração, fígado, gordura retroperitoneal, rins e pulmão) não foram observadas diferenças, em ambos os gêneros, quando normalizados pelo comprimento da tíbia. Ademais, parece haver uma programação diferenciada, a depender do gênero da prole. Outros estudos devem ser realizados para investigar e esclarecer os mecanismos que expliquem as alterações encontradas.

Assim, diante das importantes consequências encontradas na vida pós-natal da prole a partir da associação do hipotireoidismo e da dieta hiperlipídica, exclusivamente durante o período gestacional, esse trabalho constitui importante instrumento para fundamentar a implementação de estratégias para o rastreamento do hipotireoidismo em mulheres gestantes. Adicionalmente, representa forte conteúdo científico de justificativa e apoio a iniciativas de políticas públicas que visem o estabelecimento de programas nacionais de monitoramento e incentivo ao hábito alimentar saudável, especificamente em gestantes.

8 REFERÊNCIAS

ADAMS, S. H. Uncoupling Protein Homologs: Emerging Views of Physiological Function. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 711–714, 4 jan. 2000.

AHMED, O. M. et al. Thyroid hormones states and brain development interactions. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 26, n. 2, p. 147–209, abr. 2008.

AHMED, O. M. et al. Effects of experimentally induced maternal hypothyroidism and hyperthyroidism on the development of rat offspring: II—The developmental pattern of neurons in relation to oxidative stress and antioxidant defense system. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 30, n. 6, p. 517–537, out. 2012.

AKYOL, A.; LANGLEY-EVANS, S. C.; MCMULLEN, S. Obesity induced by cafeteria feeding and pregnancy outcome in the rat. **British Journal of Nutrition**, v. 102, n. 11, p. 1601–1610, 2009.

ALLAN, W. C. et al. Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. **Journal of Medical Screening**, v. 7, n. 3, p. 127–130, 9 jan. 2000.

ALM, J. et al. Neonatal hyperthyroidism alters hepatic epidermal growth factor receptor ontogeny in mice. **Pediatric research**, v. 23, n. 6, p. 557–560, jun. 1988.

ALVES, I. G. . et al. Experimental hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor performance of offspring in rats: Gestational hypothyroidism and pain in offspring. **European Journal of Pain**, v. 17, n. 9, p. 1291–1298, out. 2013.

ARAUJO, R. L. et al. Tissue-specific deiodinase regulation during food restriction and low replacement dose of leptin in rats. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 296, n. 5, p. E1157–E1163, 5 jan. 2009.

ARAUJO, R. L. et al. High-Fat Diet Increases Thyrotropin and Oxygen Consumption without Altering Circulating 3,5,3'-Triiodothyronine (T3) and Thyroxine in Rats: The Role of Iodothyronine Deiodinases, Reverse T3 Production, and Whole-Body Fat Oxidation. **Endocrinology**, v. 151, n. 7, p. 3460–3469, 7 jan. 2010.

ARAUJO, R. L.; CARVALHO, D. P. Bioenergetic impact of tissue-specific regulation of iodothyronine deiodinases during nutritional imbalance. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 43, n. 1, p. 59–65, 1 fev. 2011.

AZEVEDO, D. V. DE; SAMPAIO, H. A. DE C. Food consumption of pregnant adolescents assisted by prenatal service. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 3, p. 273–280, set. 2003.

BAQUI, M. et al. Human Type 3 Iodothyronine Selenodeiodinase Is Located in the Plasma Membrane and Undergoes Rapid Internalization to Endosomes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 2, p. 1206–1211, 1 out. 2003.

BAQUI, M. M. A. et al. Distinct Subcellular Localization of Transiently Expressed Types 1 and 2 Iodothyronine Deiodinases as Determined by Immunofluorescence Confocal Microscopy. **Endocrinology**, v. 141, n. 11, p. 4309–4312, 11 jan. 2000.

BARKER, D. J. . et al. WEIGHT IN INFANCY AND DEATH FROM ISCHAEMIC HEART DISEASE. **The Lancet**, v. 334, n. 8663, p. 577–580, set. 1989.

BARKER, D. J. P. et al. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. **The Lancet**, v. 341, n. 8850, p. 938–941, 10 abr. 1993.

BARKER, D. J. P. Fetal origins of coronary heart disease. **BMJ**, v. 311, n. 6998, p. 171–174, 15 jul. 1995.

BASSETT, J. H. D.; HARVEY, C. B.; WILLIAMS, G. R. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 213, n. 1, p. 1–11, 31 dez. 2003.

BAUTISTA, C. J. et al. Effects of a maternal low protein isocaloric diet on milk leptin and progeny serum leptin concentration and appetitive behavior in the first 21 days of neonatal life in the rat. **Pediatric research**, v. 63, n. 4, p. 358–363, 2008.

BEARDSALL, K.; OGILVY-STUART, A. L. Congenital hypothyroidism. **Current Paediatrics**, v. 14, n. 5, p. 422–429, out. 2004.

BECK, B. et al. Hypothalamic orexigenic peptides are overexpressed in young Long–Evans rats after early life exposure to fat-rich diets. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 342, n. 2, p. 452–458, 7 abr. 2006.

BIANCO, A. C. Hormônios tireóideos, UCPs e termogênese. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 4, p. 281–289, ago. 2000.

BIANCO, A. C. et al. Biochemistry, Cellular and Molecular Biology, and Physiological Roles of the Iodothyronine Selenodeiodinases. **Endocrine Reviews**, v. 23, n. 1, p. 38–89, 2 jan. 2002.

BIANCO, A. C.; KIM, B. W. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 10, p. 2571–2579, 2 out. 2006.

BIANCO, A. C.; LARSEN, P. R. Cellular and Structural Biology of the Deiodinases. **Thyroid**, v. 15, n. 8, p. 777–786, ago. 2005.

BIANCO, A. C.; SILVA, J. E. Intracellular conversion of thyroxine to triiodothyronine is required for the optimal thermogenic function of brown adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 79, n. 1, p. 295–300, jan. 1987.

BIZHANOVA, A.; KOPP, P. The Sodium-Iodide Symporter NIS and Pendrin in Iodide Homeostasis of the Thyroid. **Endocrinology**, v. 150, n. 3, p. 1084–1090, 3 jan. 2009.

BLAZER, S. et al. Maternal hypothyroidism may affect fetal growth and neonatal thyroid function. **Obstetrics and gynecology**, v. 102, n. 2, p. 232–241, ago. 2003.

BLUMFIELD, M. L. et al. Dietary balance during pregnancy is associated with fetal adiposity and fat distribution. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, n. 5, p. 1032–1041, 1 nov. 2012.

BOELAERT, K.; FRANKLYN, J. A. Thyroid hormone in health and disease. **Journal of Endocrinology**, v. 187, n. 1, p. 1–15, 10 jan. 2005.

BRANCO, M. et al. 3,5,3'-Triiodothyronine actively stimulates UCP in brown fat under minimal sympathetic activity. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 276, n. 1, p. E179–E187, 1 jan. 1999.

BRASIL. **Pesquisa de Orçamentos Familiares**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2004.

BRASIL. **Pesquisa de Orçamentos Familiares**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2011.

BRASIL. **Diretriz Brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos - DBCA**. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação; Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), 2013a.

BRASIL. **Diretrizes da prática de eutanásia**. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação; Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), 2013b.

BROSVIC, G. M.; TAYLOR, J. N.; DIHOFF, R. E. Influences of early thyroid hormone manipulations: delays in pup motor and exploratory behavior are evident in adult operant performance. **Physiology & behavior**, v. 75, n. 5, p. 697–715, 2002.

BROWN, S. A. et al. Development of cholesterol homeostatic memory in the rat is influenced by maternal diets. **Metabolism**, v. 39, n. 5, p. 468–473, 1990.

BUCKLEY, A. J. et al. Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat–fed rats. **Metabolism**, v. 54, n. 4, p. 500–507, abr. 2005.

BURMAN, K. D.; WARTOFSKY, L. Iodine Effects on the Thyroid Gland: Biochemical and Clinical Aspects. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 1, n. 1-2, p. 19–25, 1 fev. 2000.

CAMPBELL, I. Thyroid and parathyroid hormones and calcium homeostasis. **Anaesthesia and Intensive Care Medicine**, v. 6, n. 10, p. 333–336, 1 out. 2005.

CAPELO, L. P. et al. Deiodinase-mediated thyroid hormone inactivation minimizes thyroid hormone signaling in the early development of fetal skeleton. **Bone**, v. 43, n. 5, p. 921–930, nov. 2008.

CAPPOLA, A. R.; LADENSON, P. W. Hypothyroidism and Atherosclerosis. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 6, p. 2438–2444, 6 jan. 2003.

CASEY, B. M. et al. Subclinical Hypothyroidism and Pregnancy Outcomes: **Obstetrics & Gynecology**, v. 105, n. 2, p. 239–245, fev. 2005.

CASTILLO, M. et al. Disruption of Thyroid Hormone Activation in Type 2 Deiodinase Knockout Mice Causes Obesity With Glucose Intolerance and Liver Steatosis Only at Thermoneutrality. **Diabetes**, v. 60, n. 4, p. 1082–1089, 4 jan. 2011.

CERF, M. E. et al. Islet cell response in the neonatal rat after exposure to a high-fat diet during pregnancy. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 288, n. 5, p. R1122–1128, maio 2005.

CERF, M. E. et al. Gestational high-fat programming impairs insulin release and reduces Pdx-1 and glucokinase immunoreactivity in neonatal Wistar rats. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 58, n. 12, p. 1787–1792, dez. 2009.

CHAN, J. L. et al. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. **Journal of Clinical Investigation**, v. 111, n. 9, p. 1409–1421, 1 maio 2003.

CHANG, G.-Q. et al. Maternal High-Fat Diet and Fetal Programming: Increased Proliferation of Hypothalamic Peptide-Producing Neurons That Increase Risk for Overeating and Obesity. **The Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 46, p. 12107–12119, 11 dez. 2008.

CHIAMOLERA, M. I.; WONDISFORD, F. E. Thyrotropin-Releasing Hormone and the Thyroid Hormone Feedback Mechanism. **Endocrinology**, v. 150, n. 3, p. 1091–1096, 3 jan. 2009.

CHRISTOFFOLETE, M. A. et al. Mice with Targeted Disruption of the Dio2 Gene Have Cold-Induced Overexpression of the Uncoupling Protein 1 Gene but Fail to Increase Brown

Adipose Tissue Lipogenesis and Adaptive Thermogenesis. **Diabetes**, v. 53, n. 3, p. 577–584, 3 jan. 2004.

COHEN, S. Isolation of a Mouse Submaxillary Gland Protein Accelerating Incisor Eruption and Eyelid Opening in the New-born Animal. **Journal of Biological Chemistry**, v. 237, n. 5, p. 1555–1562, 5 jan. 1962.

COHEN, S.; CARPENTER, G. Human epidermal growth factor: isolation and chemical and biological properties. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, n. 4, p. 1317–1321, abr. 1975.

COLDITZ, G. A. et al. Diet and risk of clinical diabetes in women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 55, n. 5, p. 1018–1023, 5 jan. 1992.

COSTA, S. M. DA et al. Hypothyroidism in pregnancy. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 4, n. 4, p. 351–358, dez. 2004.

CROTEAU, W. et al. Cloning and Expression of a cDNA for a Mammalian Type III Iodothyronine Deiodinase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 28, p. 16569–16575, 14 jul. 1995.

CURCIO, C. et al. Development of Compensatory Thermogenesis in Response to Overfeeding in Hypothyroid Rats. **Endocrinology**, v. 140, n. 8, p. 3438–3443, 8 jan. 1999.

DAHLHOFF, M. et al. Peri-conceptual obesogenic exposure induces sex-specific programming of disease susceptibilities in adult mouse offspring. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1842, n. 2, p. 304–317, 23 nov. 2013.

DARBRA, S. et al. Perinatal hypothyroidism effects on step-through passive avoidance task in rats. **Physiology & Behavior**, v. 82, n. 2-3, p. 497–501, 15 set. 2004.

DAVIS, P. J.; LEONARD, J. L.; DAVIS, F. B. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 29, n. 2, p. 211–218, maio 2008.

DE JESUS, L. A. et al. The type 2 iodothyronine deiodinase is essential for adaptive thermogenesis in brown adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 108, n. 9, p. 1379–1385, 1 nov. 2001.

DE PERGOLA, G. et al. Free triiodothyronine and thyroid stimulating hormone are directly associated with waist circumference, independently of insulin resistance, metabolic parameters and blood pressure in overweight and obese women. **Clinical Endocrinology**, v. 67, n. 2, p. 265–269, 2007.

DEL PRADO, M.; DELGADO, G.; VILLALPANDO, S. Maternal lipid intake during pregnancy and lactation alters milk composition and production and litter growth in rats. **The Journal of nutrition**, v. 127, n. 3, p. 458–462, mar. 1997.

DENTICE, M.; SALVATORE, D. Local impact of thyroid hormone inactivation Deiodinases: the balance of thyroid hormone. **Journal of Endocrinology**, v. 209, n. 3, p. 273–282, 6 jan. 2011.

DIAMANT, S.; GORIN, E.; SHAFRIR, E. Enzyme Activities Related to Fatty-Acid Synthesis in Liver and Adipose Tissue of Rats Treated with Triiodothyronine. **European Journal of Biochemistry**, v. 26, n. 4, p. 553–559, 1972.

DONG, M. et al. Maternal obesity, lipotoxicity and cardiovascular diseases in offspring. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 55, p. 111–116, fev. 2013.

DOWLING, A. L.; IANNACONE, E. A.; ZOELLER, R. T. Maternal hypothyroidism selectively affects the expression of neuroendocrine-specific protein A messenger ribonucleic acid in the proliferative zone of the fetal rat brain cortex. **Endocrinology**, v. 142, n. 1, p. 390–399, 2001.

DUNN, G. A.; BALE, T. L. Maternal High-Fat Diet Promotes Body Length Increases and Insulin Insensitivity in Second-Generation Mice. **Endocrinology**, v. 150, n. 11, p. 4999–5009, 9 out. 2009.

DUNN, J. T.; DUNN, A. D. Update on Intrathyroidal Iodine Metabolism. **Thyroid**, v. 11, n. 5, p. 407–414, maio 2001.

DUNTAS, L. H. Thyroid Disease and Lipids. **Thyroid**, v. 12, n. 4, p. 287–293, abr. 2002.

DUPRÉ, S. M. et al. Both Thyroid Hormone Receptor (TR) β 1 and TR β 2 Isoforms Contribute to the Regulation of Hypothalamic Thyrotropin-Releasing Hormone. **Endocrinology**, v. 145, n. 5, p. 2337–2345, 5 jan. 2004.

EL AKOUM, S. et al. Nature of fatty acids in high fat diets differentially delineates obesity-linked metabolic syndrome components in male and female C57BL/6J mice. **Diabetol Metab Syndr**, v. 3, n. 1, p. 34, 2011.

ELAHI, M. M. et al. Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. **British Journal of Nutrition**, v. 102, n. 04, p. 514–519, 2009.

ENTRINGER, S. et al. Stress exposure in intrauterine life is associated with shorter telomere length in young adulthood. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, p. 201107759, 3 ago. 2011.

FÉRÉZOU-VIALA, J. et al. Long-term consequences of maternal high-fat feeding on hypothalamic leptin sensitivity and diet-induced obesity in the offspring. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 293, n. 3, p. R1056–R1062, 9 jan. 2007.

FLAMANT, F.; SAMARUT, J. Thyroid hormone receptors: lessons from knockout and knock-in mutant mice. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 14, n. 2, p. 85–90, mar. 2003.

FOWDEN, A. L. et al. Imprinted Genes, Placental Development and Fetal Growth. **Hormone Research**, v. 65, n. 3, p. 50–58, 2006.

FRANCISCHI, R. P. P. DE et al. Obesity: updated information about its etiology, morbidity and treatment. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 1, p. 17–28, abr. 2000.

GAUJAC, D. P. **Influência do Hipotireoidismo Gestacional Experimental no comportamento ingestivo e perfil metabólico da prole de ratas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2013.

GEREBEN, B. et al. Cellular and Molecular Basis of Deiodinase-Regulated Thyroid Hormone Signaling. **Endocrine Reviews**, v. 29, n. 7, p. 898–938, 12 jan. 2008a.

GEREBEN, B. et al. Activation and inactivation of thyroid hormone by deiodinases: local action with general consequences. **Cellular and molecular life sciences: CMLS**, v. 65, n. 4, p. 570–590, fev. 2008b.

GERMAIN, D. L. S.; GALTON, V. A.; HERNANDEZ, A. Defining the Roles of the Iodothyronine Deiodinases: Current Concepts and Challenges. **Endocrinology**, v. 150, n. 3, p. 1097–1107, 3 jan. 2009.

GHAMARI-LANGROUDI, M. et al. Regulation of Thyrotropin-Releasing Hormone-Expressing Neurons in Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus by Signals of Adiposity. **Molecular Endocrinology**, v. 24, n. 12, p. 2366–2381, 12 jan. 2010.

GLINOER, D. The Regulation of Thyroid Function in Pregnancy: Pathways of Endocrine Adaptation from Physiology to Pathology. **Endocrine Reviews**, v. 18, n. 3, p. 404–433, 6 jan. 1997.

GLINOER, D. The Systematic Screening and Management of Hypothyroidism and Hyperthyroidism During Pregnancy. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 9, n. 10, p. 403–411, 1 dez. 1998.

GNIULI, D. et al. Effects of high-fat diet exposure during fetal life on type 2 diabetes development in the progeny. **The Journal of Lipid Research**, v. 49, n. 9, p. 1936–1945, 27 mar. 2008.

GOHARKHAY, N. et al. Maternal hypercholesterolemia leads to activation of endogenous cholesterol synthesis in the offspring. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 199, n. 3, p. 273.e1–273.e6, set. 2008.

GOMES, M. G. et al. Blood profile of hypothyroid castrated or intact adult female rats. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n. 2, p. 294–298, abr. 2004.

GORSKI, J. N. Postnatal environment overrides genetic and prenatal factors influencing offspring obesity and insulin resistance. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 291, n. 3, p. R768–R778, 11 maio 2006.

GREGORIO, B. M. et al. Maternal high-fat intake predisposes nonalcoholic fatty liver disease in C57BL/6 offspring. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 203, n. 5, p. 495.e1–495.e8, nov. 2010.

GUO, F.; JEN, K.-L. C. High-fat feeding during pregnancy and lactation affects offspring metabolism in rats. **Physiology & Behavior**, v. 57, n. 4, p. 681–686, abr. 1995.

GUSSEKLOO J et al. THyroid status, disability and cognitive function, and survival in old age. **JAMA**, v. 292, n. 21, p. 2591–2599, 1 dez. 2004.

HADDOW, J. E. et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. **New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 8, p. 549–555, 1999.

HAIDAR, Y.; COSMAN, B. Obesity Epidemiology. **Clinics in Colon and Rectal Surgery**, v. 24, n. 04, p. 205–210, 6 dez. 2011.

HALPERIN, I. J.; FEIG, D. S. The Role of Lifestyle Interventions in the Prevention of Gestational Diabetes. **Current Diabetes Reports**, v. 14, n. 1, p. 1–7, 1 jan. 2014.

HAPON, M. B. et al. Effect of hypothyroidism on hormone profiles in virgin, pregnant and lactating rats, and on lactation. **Reproduction**, v. 126, n. 3, p. 371–382, 2003.

HAPON, M. B. Effects of hypothyroidism on mammary and liver lipid metabolism in virgin and late-pregnant rats. **The Journal of Lipid Research**, v. 46, n. 6, p. 1320–1330, 1 abr. 2005.

HARTIL, K. et al. Maternal substrate utilization programs the development of the metabolic syndrome in male mice exposed to high fat in utero. **Pediatric research**, v. 66, n. 4, p. 368–373, out. 2009.

HELLSTRÖM, L. et al. Catecholamine-Induced Adipocyte Lipolysis in Human Hyperthyroidism. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 1, p. 159–166, 1 jan. 1997.

HOTELLING, D. R.; SHERWOOD, L. M. The effects of pregnancy on circulating triiodothyronine. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 33, n. 5, p. 783–786, nov. 1971.

IDRIS, I. et al. Maternal hypothyroidism in early and late gestation: effects on neonatal and obstetric outcome. **Clinical Endocrinology**, v. 63, n. 5, p. 560–565, nov. 2005.

JACKMAN, M. R.; MACLEAN, P. S.; BESSESEN, D. H. Energy expenditure in obesity-prone and obesity-resistant rats before and after the introduction of a high-fat diet. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 299, n. 4, p. R1097–R1105, 4 ago. 2010.

JAHAGIRDAR, V. et al. Maternal Hypothyroidism Decreases Progesterone Receptor Expression in the Cortical Subplate of Foetal Rat Brain: Thyroid hormone regulation of subplate PR. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 24, n. 8, p. 1126–1134, ago. 2012.

JONES, R.; OZANNE, S. Fetal programming of glucose–insulin metabolism. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 297, n. 1-2, p. 4–9, 15 jan. 2009.

KANAKA-GANTENBEIN, C. Fetal origins of adult diabetes. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1205, n. 1, p. 99–105, 2010.

KARBALAEI, N. et al. The possible mechanisms by which maternal hypothyroidism impairs insulin secretion in adult male offspring in rats. **Experimental physiology**, 4 out. 2013.

KAVOK, N. S.; KRASILNIKOVA, O. A.; BABENKO, N. A. Thyroxine signal transduction in liver cells involves phospholipase C and phospholipase D activation. Genomic independent action of thyroid hormone. **BMC Cell Biology**, v. 2, n. 1, p. 5, 2 abr. 2001.

KIM, J.; DEBATE, R. D.; DALEY, E. Dietary Behaviors and Oral-Systemic Health in Women. **Dental Clinics of North America**, v. 57, n. 2, p. 211–231, abr. 2013.

KLEIN, R. Z. et al. Prevalence of thyroid deficiency in pregnant women. **Clinical endocrinology**, v. 35, n. 1, p. 41–46, jul. 1991.

KNUDSEN, N. et al. Small Differences in Thyroid Function May Be Important for Body Mass Index and the Occurrence of Obesity in the Population. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 7, p. 4019–4024, 7 jan. 2005.

KÖHRLE, J. et al. Selenium, the Thyroid, and the Endocrine System. **Endocrine Reviews**, v. 26, n. 7, p. 944–984, 12 jan. 2005.

KÖHRLE, J. Thyroid hormone transporters in health and disease: advances in thyroid hormone deiodination. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 21, n. 2, p. 173–191, jun. 2007.

KRAJEWSKI, D. A.; BURMAN, K. D. Thyroid Disorders in Pregnancy. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 40, n. 4, p. 739–763, dez. 2011.

KROTKIEWSKI, M. Thyroid hormones in the pathogenesis and treatment of obesity. **European Journal of Pharmacology**, v. 440, n. 2–3, p. 85–98, 12 abr. 2002.

LAGISHETTY, V. et al. Effect of maternal vitamin and mineral restrictions on the body fat content and adipocytokine levels of WNIN rat offspring. **Nutrition & Metabolism**, v. 4, p. 21, 15 out. 2007.

LASLEY, S. M.; GILBERT, M. E. Developmental thyroid hormone insufficiency reduces expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in adults but not in neonates. **Neurotoxicology and teratology**, v. 33, n. 4, p. 464–472, ago. 2011.

LAZAR, M. A.; HODIN, R. A.; CHIN, W. W. Human carboxyl-terminal variant of alpha-type c-erbA inhibits trans-activation by thyroid hormone receptors without binding thyroid hormone. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 86, n. 20, p. 7771–7774, 10 jan. 1989.

LAZARUS, J. H. Thyroid disease in pregnancy and childhood. **Minerva endocrinologica**, v. 30, n. 2, p. 71–87, jun. 2005.

LAZARUS, J. H. Screening for Thyroid Dysfunction in Pregnancy: Is It Worthwhile? **Journal of Thyroid Research**, v. 2011, 8 jun. 2011.

LECHAN, R. M.; FEKETE, C. Role of Thyroid Hormone Deiodination in the Hypothalamus. **Thyroid**, v. 15, n. 8, p. 883–897, ago. 2005.

LENARD, N. R.; BERTHOUD, H.-R. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 16 Suppl 3, p. S11–22, dez. 2008.

LOBSTEIN, T.; BAUR, L.; UAUY, R. Obesity in children and young people: a crisis in public health. **Obesity Reviews**, v. 5, p. 4–85, 2004.

MACNABB, C. et al. Congenital hypothyroidism impairs response alternation discrimination behavior. **Brain Research**, v. 847, n. 2, p. 231–239, 20 nov. 1999.

MANSOURIAN, A. R. Metabolic pathways of tetraiodothyronine and triiodothyronine production by thyroid gland: a review of articles. **Pakistan journal of biological sciences: PJBS**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 1 jan. 2011.

MARINO, R. et al. Catch-Up Growth after Hypothyroidism Is Caused by Delayed Growth Plate Senescence. **Endocrinology**, v. 149, n. 4, p. 1820–1828, abr. 2008.

MARWAHA, R. K. et al. Dyslipidemia in subclinical hypothyroidism in an Indian population. **Clinical Biochemistry**, v. 44, n. 14–15, p. 1214–1217, out. 2011.

MATSCHINSKY, F. M. A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. **Diabetes**, v. 45, n. 2, p. 223–241, 1996.

MCMILLEN, I. C.; ROBINSON, J. S. Developmental Origins of the Metabolic Syndrome: Prediction, Plasticity, and Programming. **Physiological Reviews**, v. 85, n. 2, p. 571–633, 4 jan. 2005.

MCMULLEN, T. P. W.; DELBRIDGE, L. W. Thyroid Embryology, Anatomy, and Physiology: A Review for the Surgeon. In: HUBBARD, J.; INABNET, W. B.; LO, C.-Y. (Eds.). **Endocrine Surgery**. Springer Specialist Surgery Series. [s.l.] Springer London, 2009. p. 3–16.

MIKSICEK, R. J.; TOWLE, H. C. Changes in the rates of synthesis and messenger RNA levels of hepatic glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate dehydrogenases following induction by diet or thyroid hormone. **Journal of Biological Chemistry**, v. 257, n. 19, p. 11829–11835, 10 out. 1982.

MONTORO, M. N. Management of hypothyroidism during pregnancy. **Clinical obstetrics and gynecology**, v. 40, n. 1, p. 65–80, mar. 1997.

MUKHOPADHYAY, D. et al. Thyroid hormone regulates hepatic triglyceride mobilization and apolipoprotein B messenger ribonucleic Acid editing in a murine model of congenital hypothyroidism. **Endocrinology**, v. 144, n. 2, p. 711–719, fev. 2003.

MUNOZ, A.; BERNAL, J. Biological activities of thyroid hormone receptors. **European Journal of Endocrinology**, v. 137, n. 5, p. 433–445, 11 jan. 1997.

MUST A et al. The disease burden associated with overweight and obesity. **JAMA**, v. 282, n. 16, p. 1523–1529, 27 out. 1999.

NEGISHI, T. et al. Attention-deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by perinatal hypothyroidism in rats. **Behavioural brain research**, v. 159, n. 2, p. 323–331, 30 abr. 2005.

NESS, G. C.; LOPEZ, D. Transcriptional regulation of rat hepatic low-density lipoprotein receptor and cholesterol 7 alpha hydroxylase by thyroid hormone. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 323, n. 2, p. 404–408, 10 nov. 1995.

NUNES, M. T. Thyroid hormones: mechanism of action and biological significance. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, n. 6, p. 639–643, dez. 2003.

ORIHUELA, D. Aluminium effects on thyroid gland function: Iodide uptake, hormone biosynthesis and secretion. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 105, n. 11, p. 1464–1468, nov. 2011.

ORNELLAS, F. et al. Sexual dimorphism in fat distribution and metabolic profile in mice offspring from diet-induced obese mothers. **Life sciences**, v. 93, n. 12-14, p. 454–463, 6 out. 2013.

PASCUAL, A.; ARANDA, A. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1830, n. 7, p. 3908–3916, jul. 2013.

PATEL, J. et al. Delivery of maternal thyroid hormones to the fetus. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 22, n. 5, p. 164–170, 1 maio 2011.

PEPPA, M.; BETSI, G.; DIMITRIADIS, G. Lipid Abnormalities and Cardiometabolic Risk in Patients with Overt and Subclinical Thyroid Disease. **Journal of Lipids**, v. 2011, 18 jul. 2011.

PERILLAN, C. et al. Maternal RAS influence on the ontogeny of thirst. **Physiology & Behavior**, v. 92, n. 4, p. 554–559, 23 nov. 2007.

POLAK, J. et al. The atrial natriuretic peptide- and catecholamine-induced lipolysis and expression of related genes in adipose tissue in hypothyroid and hyperthyroid patients. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 293, n. 1, p. E246–E251, 7 jan. 2007.

POP, V. J. et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. **Clinical endocrinology**, v. 50, n. 2, p. 149–155, fev. 1999.

PRIOR, L. J. et al. Exposure to a high-fat diet alters leptin sensitivity and elevates renal sympathetic nerve activity and arterial pressure in rabbits. **Hypertension**, v. 55, n. 4, p. 862–868, abr. 2010.

PURCELL, R. H. et al. Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition, and pup ingestive behavior. **Physiology & behavior**, v. 104, n. 3, p. 474–479, 1 set. 2011.

RAMADAN, W. S.; ALSHIRAIHI, I.; AL-KARIM SALEH. Effect of maternal low protein diet during pregnancy on the fetal liver of rats. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**, v. 195, n. 1, p. 68–76, jan. 2013.

RAYBOULD, H. E. et al. Inhibition of gastric emptying in response to intestinal lipid is dependent on chylomicron formation. **The American journal of physiology**, v. 274, n. 6 Pt 2, p. R1834–1838, jun. 1998.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 11 jan. 1993.

REINEHR, T. et al. Thyroid Hormones and Their Relation to Weight Status. **Hormone Research**, v. 70, n. 1, p. 51–57, 2008.

REINEHR, T. Obesity and thyroid function. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 316, n. 2, p. 165–171, 25 mar. 2010.

RIBEIRO, M. O. et al. Thyroid hormone-sympathetic interaction and adaptive thermogenesis are thyroid hormone receptor isoform-specific. **Journal of Clinical Investigation**, v. 108, n. 1, p. 97–105, 1 jul. 2001.

ROTONDI, M. et al. Raised serum TSH levels in patients with morbid obesity: is it enough to diagnose subclinical hypothyroidism? **European Journal of Endocrinology**, v. 160, n. 3, p. 403–408, 3 jan. 2009.

SALA-ROCA, J. et al. Effects of dysthyroidism in plus maze and social interaction tests. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 72, n. 3, p. 643–650, jun. 2002.

SALTER, A. M. et al. Effects of hypothyroidism and high-fat feeding on mRNA concentrations for the low-density-lipoprotein receptor and on acyl-CoA:cholesterol

acyltransferase activities in rat liver. **Biochemical Journal**, v. 276, n. Pt 3, p. 825–832, 15 jun. 1991.

SALVATORE, D. et al. Type 3 Iodothyronine deiodinase: cloning, in vitro expression, and functional analysis of the placental selenoenzyme. **Journal of Clinical Investigation**, v. 96, n. 5, p. 2421–2430, nov. 1995.

SANTANA-FARRÉ, R. et al. Influence of neonatal hypothyroidism on hepatic gene expression and lipid metabolism in adulthood. **PloS one**, v. 7, n. 5, p. e37386, 2012.

SAVASTANO, D. M.; COVASA, M. Adaptation to a high-fat diet leads to hyperphagia and diminished sensitivity to cholecystokinin in rats. **The Journal of nutrition**, v. 135, n. 8, p. 1953–1959, ago. 2005.

SCHALOCK, R. L.; BROWN, W. J.; SMITH, R. L. Neonatal hypothyroidism: Behavioral, thyroid hormonal and neuroanatomical effects. **Physiology & Behavior**, v. 19, n. 4, p. 489–491, out. 1977.

SCHROEDER, M. et al. Examining maternal influence on OLETF rats' early overweight: insights from a cross-fostering study. **Developmental psychobiology**, v. 51, n. 4, p. 358–366, maio 2009.

SHARIFIRAD, G. et al. Determinants of Fast Food Consumption among Iranian High School Students Based on Planned Behavior Theory. **Journal of Obesity**, v. 2013, 11 jul. 2013.

SHIBUTANI, M. et al. Assessment of developmental effects of hypothyroidism in rats from in utero and lactation exposure to anti-thyroid agents. **Reproductive Toxicology**, v. 28, n. 3, p. 297–307, nov. 2009.

SHRADER, R. E. et al. Hematologic and trace element alterations following chronic maternal ingestion of propylthiourea. **Experimental hematology**, v. 10, n. 1, p. 44–55, jan. 1982.

SILVA, J. E. The multiple contributions of thyroid hormone to heat production. **Journal of Clinical Investigation**, v. 108, n. 1, p. 35–37, 1 jul. 2001.

SILVA, J. E. Thermogenic Mechanisms and Their Hormonal Regulation. **Physiological Reviews**, v. 86, n. 2, p. 435–464, 4 jan. 2006.

SILVA, J. E.; LARSEN, P. R. Potential of brown adipose tissue type II thyroxine 5'-deiodinase as a local and systemic source of triiodothyronine in rats. **Journal of Clinical Investigation**, v. 76, n. 6, p. 2296–2305, 1 dez. 1985.

SIRAKOV, M.; PLATEROTI, M. The thyroid hormones and their nuclear receptors in the gut: From developmental biology to cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1812, n. 8, p. 938–946, ago. 2011.

SLOTKIN, T. A.; SLEPETIS, R. J. Obligatory role of thyroid hormones in development of peripheral sympathetic and central nervous system catecholaminergic neurons: effects of propylthiouracil-induced hypothyroidism on transmitter levels, turnover and release. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 230, n. 1, p. 53–61, jul. 1984.

SMITH, J. W. et al. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 1, p. 45–60, jan. 2002.

SOSVOROVÁ, L. et al. The presence of monoiodinated derivatives of daidzein and genistein in human urine and its effect on thyroid gland function. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2774–2779, ago. 2012.

STATHATOS, N. Thyroid Physiology. **Medical Clinics of North America**, v. 96, n. 2, p. 165–173, mar. 2012.

SU, P.-Y. et al. Maternal Thyroid Function in the First Twenty Weeks of Pregnancy and Subsequent Fetal and Infant Development: A Prospective Population-Based Cohort Study in China. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 96, n. 10, p. 3234–3241, 10 jan. 2011.

SUTER, M. A. et al. Maternal High-Fat Diet Modulates the Fetal Thyroid Axis and Thyroid Gene Expression in a Nonhuman Primate Model. **Molecular Endocrinology**, v. 26, n. 12, p. 2071–2080, dez. 2012.

SYMONDS, M. E. et al. Adipose tissue and fetal programming. **Diabetologia**, v. 55, n. 6, p. 1597–1606, jun. 2012.

TAYLOR, P. D. et al. Uterine artery function in pregnant rats fed a diet supplemented with animal lard. **Experimental physiology**, v. 88, n. 3, p. 389–398, maio 2003.

THOMPSON, C. C.; EVANS, R. M. Trans-activation by thyroid hormone receptors: functional parallels with steroid hormone receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, n. 10, p. 3494–3498, maio 1989.

TU, H. M. et al. Regional Expression of the Type 3 Iodothyronine Deiodinase Messenger Ribonucleic Acid in the Rat Central Nervous System and Its Regulation by Thyroid Hormone. **Endocrinology**, v. 140, n. 2, p. 784–790, 2 jan. 1999.

VAIDYA, B. et al. Detection of Thyroid Dysfunction in Early Pregnancy: Universal Screening or Targeted High-Risk Case Finding? **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 1, p. 203–207, 1 jan. 2007.

VALASSI, E.; SCACCHI, M.; CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD**, v. 18, n. 2, p. 158–168, fev. 2008.

VAN STRATEN, E. M. E. et al. Sex-dependent programming of glucose and fatty acid metabolism in mouse offspring by maternal protein restriction. **Gender medicine**, v. 9, n. 3, p. 166–179.e13, jun. 2012.

VAN WIJK, N.; RIJNTJES, E.; VAN DE HEIJNING, B. J. M. Perinatal and chronic hypothyroidism impair behavioural development in male and female rats. **Experimental physiology**, v. 93, n. 11, p. 1199–1209, nov. 2008.

VIEIRA, J. G. H. et al. Free thyroxine values during pregnancy. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n. 2, p. 305–309, abr. 2004.

WEST-EBERHARD, M. J. Phenotypic Plasticity and the Origins of Diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 20, n. 1, p. 249–278, 1989.

WHITE, C. L.; PURPERA, M. N.; MORRISON, C. D. Maternal obesity is necessary for programming effect of high-fat diet on offspring. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 296, n. 5, p. R1464–R1472, 25 fev. 2009.

YUAN, Q. et al. Postnatal Pancreatic Islet β Cell Function and Insulin Sensitivity at Different Stages of Lifetime in Rats Born with Intrauterine Growth Retardation. **PLoS ONE**, v. 6, n. 10, p. e25167, 12 out. 2011.

ZIMMERMANN, M. B.; JOOSTE, P. L.; PANDAV, C. S. Iodine-deficiency disorders. **The Lancet**, v. 372, n. 9645, p. 1251–1262, out. 2008.

ANEXO A



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado **“EFEITO DO HIPOTIREOIDISMO GESTACIONAL EXPERIMENTAL ASSOCIADO À DIETA HIPERLIPÍDICA NA ADIPOSIDADE E NO COMPORTAMENTO INGESTIVO DA PROLE DE RATAS”** sob coordenação do Prof. Dr. **DANIEL BADAUÊ PASSOS JÚNIOR** (protocolo **CEPA 69/2012**) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe, em reunião realizada dia 13/11/2012.

São Cristóvão, 14 de novembro de 2012.

Prof. Dr. FLÁVIA TEIXEIRA SILVA
Presidente do CEPA/UFS