

**ARMANDO FERREIRA VIDONHO JUNIOR**

*Consumo de sal durante a gestação e  
lactação em ratas Wistar: efeitos sobre a  
pressão arterial, sensibilidade à insulina e  
perfil lipídico na prole adulta*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina  
da Universidade de São Paulo para a  
obtenção do título de Doutor em Ciências.

**SÃO PAULO**

**2003**

**ARMANDO FERREIRA VIDONHO JUNIOR**

*Consumo de sal durante a gestação e  
lactação em ratas Wistar: efeitos sobre a  
pressão arterial, sensibilidade à insulina e  
perfil lipídico na prole adulta*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina  
da Universidade de São Paulo para a  
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Nefrologia

Orientador: Prof. Dr. Joel Claudio Heimann

**SÃO PAULO**

**2003**

## **DEDICATÓRIA**

**A Armando Ferreira Vidonho,**

meu querido pai, modelo de vida e de ética profissional, o qual foi o  
real motivo de inspiração para a realização deste trabalho.

**A Dalva e Fátima,**

minhas adoradas mãe e irmã pelo constante amor e apoio durante  
minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

**Professor Doutor Joel Claudio Heimann,**

por ter me aceito como aluno e pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa científica no seu laboratório. Pela sua grande paciência e dedicação, primor científico, além de sua orientação sempre segura e em tempo integral.

Doutora Miriam Sterman Dolnikoff,

pela amizade e ensinamentos tanto teóricos como práticos ao longo deste trabalho.

Doutora Luzia Naôko Shinohara Furukawa,

pela constante dedicação e amizade, sem a qual, não seria possível a realização deste trabalho.

Doutor Carlos Antônio do Nascimento,

pela disponibilidade e ajuda em momentos importantes da tese.

Professor Doutor Rui Toledo Barros,  
por ter me aceito e confiado em mim como pós-graduando da  
disciplina de Nefrologia.

Doutor Alexandre Alves da Silva,  
pelo companheirismo, inestimável ajuda, e por ter iniciado esta  
linha de pesquisa, me dando oportunidade de continuar seu trabalho.

Professores Doutores João Egídio Romão Jr., Irene Lourdes  
Noronha, Hugo Abensur e Doutora Maria Regina Araújo,  
pela educação e ensinamentos durante minha formação como  
nefrologista.

Doutores Ruy Ribeiro Campos e Cássia Maria de Toledo  
Bergamaschi,  
pelo interesse e disponibilidade de ajuda no esclarecimento dos  
resultados.

Aos colegas Sérgio Catanozi e Jussara Cordeiro Rocha pela grande  
ajuda na obtenção dos resultados deste trabalho.

Aos colegas de trabalho Lucilene Kimura e Rui Fernando Araújo pela paciência nos constantes atrasos de plantão e pelo apoio durante a realização desta tese.

Aos colegas que passaram pelo Laboratório de Hipertensão Experimental, durante o meu período de pós-graduação, com sua ajuda nos momentos difíceis.

Aos amigos Walter Campestre e Janice da Graça Pião da Silva pela dedicação e apoio no cuidado dos animais e materiais utilizados neste trabalho.

As secretárias Eliana Gonçalves, Denise Cristina Duarte e Marineide Ribeiro pela disponibilidade e constante ajuda.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos durante todo o período de pós-graduação, o que facilitou minha dedicação à tese.

# SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MÉTODOS.....	6
2.1 Animais.....	6
2.2 Medida de pressão arterial caudal.....	9
2.3 Procedimentos cirúrgicos.....	9
2.4 Medida da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC).....	10
2.5 “Clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico.....	10
2.6 Determinações bioquímicas.....	12
2.6.1 Dosagem de insulina, glicemia, colesterol e triacilgliceróis plasmáticos.....	12
2.6.2 Dosagem da excreção urinária de sódio e potássio.....	13
2.6.3 Dosagem de nitrato e nitrito (NO <sub>2</sub> /NO <sub>3</sub> ).....	13
2.7 Análise estatística.....	15
3. RESULTADOS.....	14
4. RESUMO DOS RESULTADOS.....	43
5. DISCUSSÃO.....	44
6. CONCLUSÃO.....	50
7. PERSPECTIVAS.....	51
8. ANEXO.....	52
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

ACTH – Hormônio corticotrófico

CLAMP – “Clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico

EHHA – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

FC – Frequência cardíaca

HO – Dieta hipossódica

HR1 – Dieta hipersódica 1

HR2 – Dieta hipersódica 2

NO – Óxido nítrico

NO<sub>2</sub> – Nitrito

NO<sub>3</sub> – Nitrato

NR – Dieta normossódica

PA – Pressão arterial

P<sub>Ac</sub> – Pressão arterial caudal

11- $\beta$  HSD – 11- $\beta$  hidroxisteróide desidrogenase placentária



## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> - Protocolo experimental do grupo materno.....	7
<b>Figura 2</b> - Protocolo experimental do grupo prole.....	8
<b>Figura 3</b> - Efeito da dieta e do tempo de consumo das mesmas sobre o peso corpóreo, medido em fêmeas que foram submetidos às dietas hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), desde a 8ª semana de vida até o término da gestação.....	15
<b>Figura 4</b> - Painel A: Efeito da dieta sobre a pressão arterial caudal em fêmeas que foram submetidos às dietas hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2). Painel B: Inclinação da curva de queda da pressão arterial verificado durante a gestação.....	16
<b>Figura 5</b> - Peso ao nascimento de prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica HO, normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	19
<b>Figura 6</b> - Peso ao nascimento de prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	20
<b>Figura 7</b> - Glicemia neonatal de prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	21
<b>Figura 8</b> - Glicemia neonatal de prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	22

<b>Figura 9</b> - Peso corpóreo avaliado a cada 3 dias em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	26
<b>Figura 10</b> - Peso corpóreo avaliado a cada 3 dias em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	27
<b>Figura 11</b> - Peso corpóreo avaliado semanalmente, da 3ª a 12ª semana de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	28
<b>Figura 12</b> - Peso corpóreo avaliado semanalmente, da 3ª a 12ª semana de vida, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	29
<b>Figura 13</b> - Pressão arterial caudal avaliada semanalmente, da 8ª a 12ª semana de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	30
<b>Figura 14</b> - Pressão arterial caudal avaliada semanalmente, da 8ª a 12ª semana de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	31

<b>Figura 15</b> - Peso corpóreo, avaliado no dia do CLAMP, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	32
<b>Figura 16</b> - Peso corpóreo, avaliado no dia do CLAMP, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	33
<b>Figura 17</b> - Frequência cardíaca (bpm-batimentos por minuto), avaliada no dia do CLAMP, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	34
<b>Figura 18</b> - Frequência cardíaca (bpm–batimentos por minuto), avaliada no dia do CLAMP, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	35
<b>Figura 19</b> - Pressão arterial direta, verificada no dia do CLAMP, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica, normossódica, hipersódica 1 ou hipersódica 2, durante a gestação e lactação.....	36
<b>Figura 20</b> - Pressão arterial direta, verificada no dia do CLAMP, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	37
<b>Figura 21</b> - Consumo de glicose, avaliado por meio de “clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	38

<b>Figura 22</b> - Consumo de glicose, avaliado por meio de “clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	39
<b>Figura 23</b> - Colesterol plasmático avaliado em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	40
<b>Figura 24</b> - Colesterol plasmático avaliado em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	41
<b>Figura 25</b> - Triacilgliceróis plasmáticos avaliados em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	41
<b>Figura 26</b> - Triacilgliceróis plasmáticos avaliados em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação.....	42

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Glicemia e insulinemia de jejum, antes e durante as 3 semanas de gestação, em ratas submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	18
<b>Tabela 2</b> - Excreção urinária de sódio e potássio, diurese e ingestão hídrica em prole de 3 semanas de vida, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 ou HR2, durante a gestação e lactação.....	24
<b>Tabela 3</b> - Excreção urinária de 24 horas de NO <sub>2</sub> /NO <sub>3</sub> em prole de 3 semanas de vida, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 ou HR2, durante a gestação e lactação. NO <sub>2</sub> /NO <sub>3</sub> plasmático em prole de 12 semanas de vida, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 ou HR2, durante a gestação e lactação.....	25
<b>Tabela 4</b> - Peso materno, do desmame ao término da gestação, em ratas submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	52
<b>Tabela 5</b> - PAc materna, da 11 <sup>a</sup> até a 15 <sup>a</sup> semana de vida (1 <sup>a</sup> semana de lactação), em ratas submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	53
<b>Tabela 6</b> - Peso ao nascimento em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	54
<b>Tabela 7</b> - Peso ao nascimento em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	55
<b>Tabela 8</b> - Glicemia neonatal em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	56
<b>Tabela 9</b> - Glicemia neonatal em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	57

<b>Tabela 10</b> - Peso do nascimento ao desmame em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	58
<b>Tabela 11</b> - Peso do nascimento ao desmame em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	59
<b>Tabela 12</b> - Peso do desmame até 12 semanas de vida em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	60
<b>Tabela 13</b> - Peso do desmame até 12 semanas de vida em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	61
<b>Tabela 14</b> – Pac, da 8 <sup>a</sup> até a 12 <sup>a</sup> semana de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	62
<b>Tabela 15</b> – Pac, da 8 <sup>a</sup> até a 12 <sup>a</sup> semana de vida, em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	63
<b>Tabela 16</b> - Peso corpóreo com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	64
<b>Tabela 17</b> - Peso corpóreo com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	65
<b>Tabela 18</b> - Frequência cardíaca (bpm – batimentos por minuto) com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	66
<b>Tabela 19</b> - Frequência cardíaca (bpm – batimentos por minuto) com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	67

<b>Tabela 20</b> - Pressão arterial direta (mmHg) com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	68
<b>Tabela 21</b> - Pressão arterial direta (mmHg) com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	69
<b>Tabela 22</b> - Consumo de glicose ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ), avaliada através do CLAMP, com 12 semanas de vida em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	70
<b>Tabela 23</b> - Consumo de glicose ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ), avaliada através do CLAMP, com 12 semanas de vida em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	71
<b>Tabela 24</b> - Colesterol plasmático (mg/dL) com 12 semanas de vida em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	72
<b>Tabela 25</b> - Colesterol plasmático (mg/dL) com 12 semanas de vida em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	73
<b>Tabela 26</b> - Triacilgliceróis plasmáticos (mg/dL) com 12 semanas de vida em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	74
<b>Tabela 27</b> - Triacilgliceróis plasmáticos (mg/dL) com 12 semanas de vida em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.....	75

## RESUMO

Vidonho Jr., AFV. **Consumo de sal durante a gestação e lactação em ratas Wistar: efeitos sobre a pressão arterial, sensibilidade à insulina e perfil lipídico na prole adulta.** São Paulo, 2003. 83p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Diversos estudos dão suporte a hipótese de que doenças crônicas, como hipertensão arterial e diabetes do tipo 2, podem ser desencadeadas por eventos que ocorrem durante a vida intra-uterina. O consumo de sal na dieta representa um dos principais fatores ambientais na gênese da hipertensão arterial. A associação entre sobrecarga e restrição de sal durante o período perinatal e os seus efeitos sobre a prole na vida adulta ainda gera controvérsias. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do consumo de sal durante a gestação e a lactação sobre a pressão arterial, sensibilidade à insulina e perfil lipídico em prole na vida adulta. Com esta finalidade, Ratas Wistar foram alimentadas com dieta hipossódica (HO: 0,15% NaCl), normossódica (NR: 1,3%), hipersódica 1 (HR1: 4%) ou hipersódica 2 (HR2: 8%). As dietas foram fornecidas desde 8 semanas de vida. Ao completarem 12 semanas de vida, as fêmeas foram acasaladas com machos adultos que consumiam exclusivamente a dieta NR. Medidas semanais de pressão arterial caudal foram verificadas desde uma semana antes até uma semana após a gestação. Após o parto, apenas 8 filhotes (4 machos e 4 fêmeas) foram mantidos com suas mães. A prole de todos os grupos recebeu somente dieta NR a partir do desmame. Ao completarem 12 semanas de vida, a prole foi submetida à cirurgia para implantação de cateteres na veia jugular e artéria carótida e após um período de três a cinco dias, para recuperação pós-operatória, foram realizadas medidas de pressão arterial direta e avaliação do consumo periférico de glicose por meio de “clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico. A pressão arterial caudal durante a gestação foi maior no grupo de ratas tratadas com dieta HR2 e HR1 quando comparado aos grupos NR e HO. A glicemia e insulinemia de jejum foram maiores nas ratas tratadas com dieta HO quando comparadas aos outros grupos. O peso ao nascimento foi menor na prole masculina e feminina de mães submetidas à dieta HO, quando comparadas aos grupos submetidos à sobrecarga de sal na dieta. A pressão arterial direta foi maior em prole masculina e feminina cujas mães foram submetidas à dieta HR2 ou HR1. A sensibilidade à insulina foi menor somente em prole masculina de mães submetidas à dieta HO. O colesterol e os triacilgliceróis plasmáticos foram maiores somente em prole masculina, cujas mães foram alimentadas com dieta HO. Concluindo, peso ao nascimento, pressão arterial, sensibilidade à insulina e modificações do perfil lipídico na vida adulta são influenciados pelo consumo de sal materno durante a gestação e a lactação.



## SUMMARY

Vidinho Jr., AFV. **Salt intake during pregnancy and lactation influences blood pressure, insulin sensitivity, and plasma lipid profile in adult offspring.** São Paulo, 2003. 83p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Several studies support the hypothesis that chronic diseases in adulthood, such as hypertension and type 2 diabetes, might be triggered by events occurring during fetus life. Dietary salt consumption represents one of the major environmental factors in the genesis of hypertension. The association between salt intake during the perinatal period and the effects on adult offspring is still a controversial issue. The objective of the present study was to evaluate the influences of salt consumption during pregnancy and lactation on blood pressure, insulin sensitivity, and plasma lipid profile in adult offspring. With this purpose, female Wistar rats were fed a low (LSD: 0.15% NaCl), normal (NSD: 1.3%), high 1 (HSD1: 4%), or high 2 (HSD2: 8%) salt diet since 8 weeks of age. At 12 weeks of age, they were matched with males that received only NSD. Weekly tail-cuff blood pressure measurements were done from one week before until one week after pregnancy. After birth, only 8 pups (4 males and 4 females) were kept with their mothers. After weaning, all offspring received only NSD. At 12 weeks of age, the offspring were submitted to surgery for catheters implantation. After three to five days, intra-arterial mean blood pressure and glucose uptake, through a euglycemic hyperinsulinemic clamp, were performed. During pregnancy, tail-cuff blood pressure was higher in HSD1 and HSD2 groups than in NSD and LSD. Fasting plasma glucose and insulin concentrations were higher in LSD dams when compared with the three others maternal groups. Birth weight was lower in both male and female offspring from LSD dams. Intra-arterial mean blood pressure was higher ( $p < 0.05$ ) in both male and female offspring from HSD1 and HSD2 mothers. Insulin sensitivity was lower only in male offspring from LSD mothers. Higher plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations were observed only in male offspring from LSD dams. In conclusion, birth weight, blood pressure, insulin sensitivity, and plasma lipid profile in adulthood are influenced by maternal salt intake during pregnancy and lactation.

## 1. INTRODUÇÃO

A noção de que doenças crônicas, como hipertensão arterial e diabetes do tipo 2, podem ser desencadeadas por eventos que ocorrem ainda na vida intra-uterina foi relatada por Barker e colaboradores na década de 80 <sup>1</sup>. Este estudo epidemiológico, realizado na população da Inglaterra e País de Gales, mostrou uma relação inversa entre baixo padrão sócio-econômico e mortalidade infantil e doença cardíaca isquêmica na vida adulta. O autor estabelece a hipótese de que uma nutrição inadequada em fases precoces do desenvolvimento poderia ser a causa deste fenômeno.

Outros estudos de Barker foram baseados em dados epidemiológicos colhidos nas cidades inglesas de Hertfordshire, Preston e Sheffield <sup>2,3</sup>. Nestes centros, Barker coletou dados de peso e tamanho ao nascimento de cerca de 16.000 homens e mulheres nascidos entre os anos de 1911 e 1930. O estudo mostrou que a mortalidade por doença coronariana era duas vezes maior nos indivíduos que se localizavam no limite inferior da curva de distribuição de peso ao nascimento. Para explicar este até então desconhecido fenômeno, o autor propôs o que hoje é denominado “Hipótese de Barker”. Segundo ele, o desenvolvimento do feto apresenta determinados períodos de rápida divisão celular, conhecidos como períodos críticos, nos quais são formados

os diversos órgãos e tecidos. Eventos ocorridos durante estes períodos podem alterar a estrutura e função dos sistemas em desenvolvimento gerando conseqüências precoces (peso ao nascimento) e/ou tardias (doenças na vida adulta). O conceito de programação intra-uterina proposta por Barker ainda é matéria controversa <sup>4</sup>, porém o crescente número de estudos, confirmando seus achados iniciais, dá maior suporte para sua hipótese <sup>5-8</sup>.

Law e colaboradores creditaram à desnutrição intra-uterina o papel de principal mecanismo de iniciação da hipertensão arterial e de outras doenças na vida adulta <sup>9,10</sup>. Segundo os autores, a desnutrição intra-uterina poderia levar a alterações no fluxo sanguíneo materno-placentário e no tamanho da placenta. Alguns modelos experimentais de desnutrição intra-uterina levam ao aparecimento de uma prole com baixo peso ao nascimento e desenvolvimento de hipertensão arterial na vida adulta. Estudos em cobaias que foram submetidas à ligadura da artéria uterina durante a gestação, resultaram em retardo de crescimento da prole, com redução do peso ao nascimento em torno de 48 a 57% e incremento de 7 mmHg da pressão arterial na vida adulta <sup>11</sup>. Do mesmo modo, a restrição de proteínas na dieta de ratas grávidas resultou em uma prole com importante redução no peso corpóreo ao nascimento e uma pressão arterial sistólica maior que a do grupo controle, observada na idade adulta <sup>12</sup>.

Estudos em humanos são limitados por restrições éticas. No entanto, estudos recentes nos quais foram avaliados indivíduos nascidos de mães que sofreram restrição alimentar importante, ocorrida durante a segunda guerra mundial (1944-1945), mostraram aumento na incidência de fatores de risco cardiovascular <sup>13-15</sup>. Apesar disto, não foi observado um aumento da mortalidade nestes indivíduos após a

idade de 18 anos. Os autores reconhecem a necessidade de estudos adicionais para esclarecer melhor esta associação entre peso ao nascimento e doenças na vida adulta.

Outro modelo bastante estudado é o bloqueio da enzima 11- $\beta$  hidroxisteróide desidrogenase placentária (11- $\beta$  HSD)<sup>16</sup>. Esta enzima desempenha importante papel na metabolização de glicocorticóides na placenta. No feto, o excesso de glicocorticóides maternos pode suprimir o desenvolvimento das glândulas adrenais pela inibição da secreção do hormônio corticotrófico (ACTH). Este prejuízo anatômico e funcional pode levar a alterações da esteroidogênese na idade adulta.

Em modelos experimentais, a exposição fetal a glicocorticóides sintéticos resulta em retardo de crescimento intra-uterino<sup>17,18</sup>. Estudos recentes sugerem que alterações precoces no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (EHHA) podem ter importância nos mecanismos de crescimento fetal e podem estar relacionadas ao aparecimento de resistência à insulina na vida adulta<sup>19</sup>.

Um dos fatores ambientais mais estudados na gênese da hipertensão arterial é o consumo de sal. A relação direta entre ingestão de sal e pressão arterial é bem estabelecida em estudos epidemiológicos e experimentais<sup>20-22</sup>. No passado, a restrição de sal era recomendada para mulheres com hipertensão arterial na gestação. No entanto, não apenas a sobrecarga, mas também a restrição de sal pode acarretar consequências importantes, especialmente para o desenvolvimento fetal.

Hazon e colaboradores utilizando ratos de linhagem Brattelboro, demonstraram que os animais cujas mães receberam uma dieta rica em sal durante a gestação estavam expostos a um fluido amniótico com concentrações maiores de sódio, quando comparados a um grupo controle com dieta considerada normal<sup>23</sup>. Os autores também demonstraram que, apesar das concentrações de sódio no leite

materno dos dois grupos não apresentarem diferenças importantes, a excreção urinária de sódio no grupo controle era significativamente menor até a segunda semana de vida. Este achado sugere uma maior ingestão de leite materno no grupo com dieta rica em sal. Ainda segundo os autores, uma ingestão de sódio aumentada em uma fase precoce do desenvolvimento pode resultar em alterações no manejo renal de sódio e hipertensão arterial na vida adulta.

Ao contrário, Rapp e colaboradores não foram capazes de demonstrar efeitos sobre a pressão arterial da prole adulta de ratos Dahl sensíveis a sal, cujas mães foram submetidas a uma dieta hipersódica <sup>24</sup>.

Nesta linha de pesquisa, Silva e colaboradores verificaram que ratas submetidas a uma dieta rica em sal apresentavam maior pressão arterial durante a gestação, associado a menores níveis plasmáticos de colesterol <sup>25</sup>. A prole destas ratas apresentou menor velocidade de crescimento corpóreo, maior pressão arterial entre a 8<sup>a</sup> e a 12<sup>a</sup> semana de vida, menor sensibilidade da pressão arterial ao sal e uma não modulação do sistema renina-angiotensina em resposta a variações no conteúdo de sal da dieta <sup>25</sup>.

Em um outro estudo realizado em nosso Laboratório, foi visto que ratos machos, submetidos à restrição crônica de sal, apresentaram maior peso corpóreo e menor sensibilidade à insulina com 12 semanas de idade <sup>26</sup>. Supondo que tais alterações podem também ocorrer em ratas, durante a gestação e lactação, isto poderia influenciar o desenvolvimento da prole, com repercussões na idade adulta.

Na tentativa de entender melhor a repercussão do consumo de sal durante o período perinatal sobre a prole adulta, o presente trabalho tem por **objetivo** avaliar a pressão arterial, sensibilidade à insulina e perfil lipídico em prole na vida adulta,

nascida de mães submetidas à sobrecarga ou restrição de sal durante a gestação e lactação.

## **2. MÉTODOS**

Os experimentos realizados neste projeto de pesquisa estão de acordo com os princípios éticos de experimentação animal adotado pelo Código Brasileiro de Experimentação Animal e foram aprovados pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

### **2.1 ANIMAIS**

#### **GRUPO MATERNO (Figura 1)**

Foram utilizadas ratas Wistar com 3 semanas de idade. Ao completarem 8 semanas de idade, os animais foram divididos em 4 grupos de acordo com a dieta introduzida nesta idade (Harland Teklad, Madison, WI - USA):

Dieta hipossódica (HO): 0,15% de NaCl e 25% de proteínas (n=8)

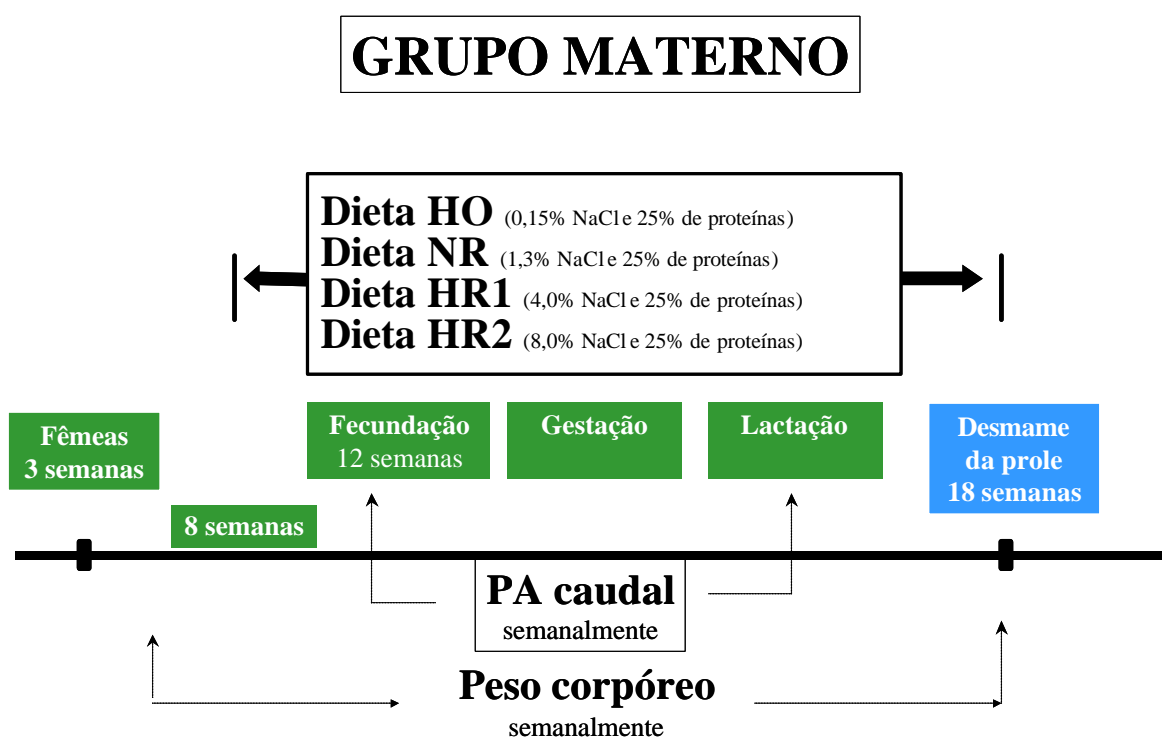
Dieta normossódica (NR): 1,3% de NaCl e 25% de proteínas (n=8)

Dieta hipersódica 1 (HR1): 4,0% de NaCl e 25% de proteínas (n=8)

Dieta hipersódica 2 (HR2): 8,0% de NaCl e 25% de proteínas (n=8)

Os animais eram pesados semanalmente desde o desmame até o final da gestação. Ao completarem 12 semanas de idade as fêmeas foram acasaladas com machos adultos que receberam exclusivamente dieta NR.

Os ratos foram acondicionados em gaiolas de plástico (4 animais/gaiola) em ambiente mantido à temperatura de 25°C, com ciclos claro-escuro fixos de 12 horas, sendo a luz acesa às 6 horas, e recebendo água potável *ad libitum*.



**Figura 1** – Protocolo experimental do grupo materno.

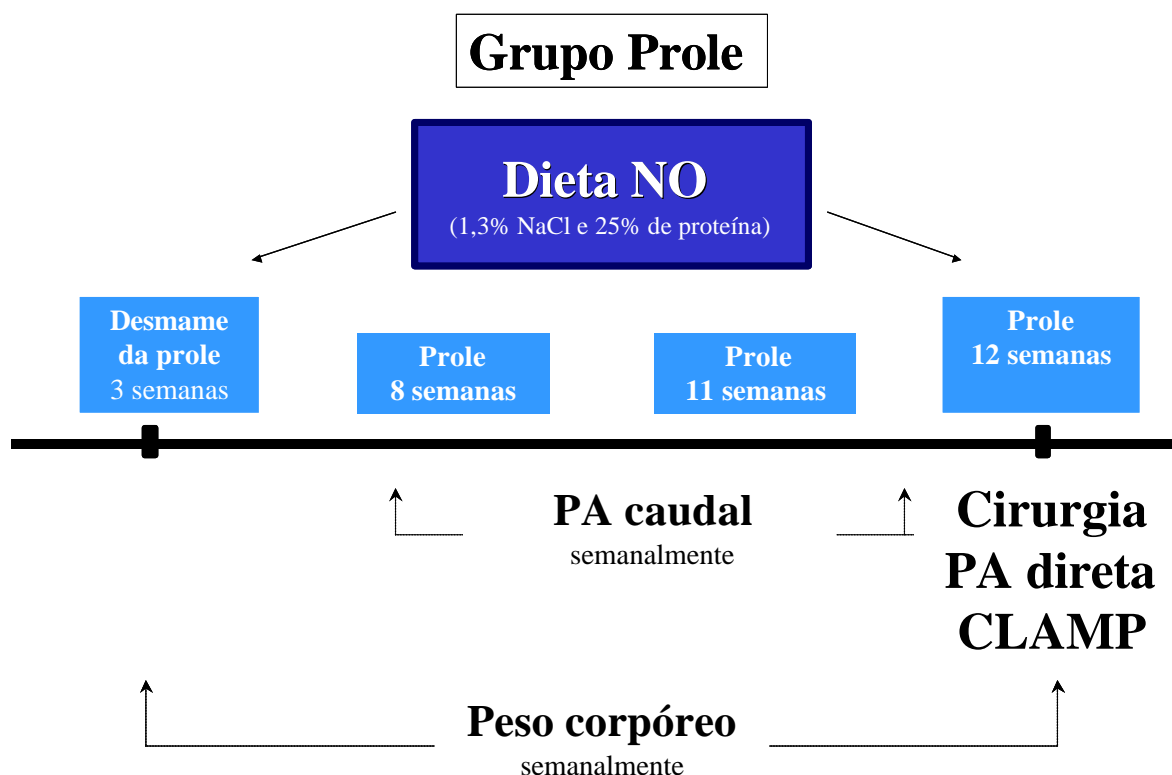


## GRUPO PROLE (Figura 2)

Após o nascimento da prole, apenas 8 filhotes (4 machos e 4 fêmeas) foram mantidos com suas respectivas mães. Os animais excedentes foram sacrificados por decapitação para coleta de sangue para avaliação da glicemia neonatal (até 24 horas após o nascimento).

Após o desmame, todos os animais foram submetidos à dieta normossódica NR.

Os animais foram pesados semanalmente desde o nascimento até completarem 12 semanas de vida, quando então foram realizados os procedimentos cirúrgicos.



**Figura 2** – Protocolo experimental do grupo prole.

## **2.2 PRESSÃO ARTERIAL CAUDAL (PAC)**

As medidas de pressão arterial caudal foram realizadas em animais acordados utilizando o método oscilométrico (Harvard Indirect Rat Tail Blood Pressure Monitor – Harvard Apparatus Ltd, Edenbridge, Kent, England). O equipamento estava conectado a um computador para o armazenamento e análise dos dados (CODAS – DATAQ Instruments). Os animais eram previamente treinados para adaptação ao método de medida. No dia do experimento eram aquecidos por 30 minutos antes das medidas de PAC. Para cada animal eram registradas 4 medidas de PAC.

Nas mães, a PAC foi verificada semanalmente antes, durante e após a gestação.

Na prole a PAC foi verificada semanalmente da 8<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semana de vida.

## **2.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO PARA IMPLANTAÇÃO DE CATETERES**

Na 12<sup>a</sup> semana de idade, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico intraperitoneal (i.p. - 50 mg/kg) para o implante cirúrgico de cateteres (PE 50 – Intramedic Inc. , Becton Dickinson, Sparks, MD – USA) na artéria carótida e veia jugular esquerdas. Os cateteres foram exteriorizados na face dorsal do pescoço do animal e em seguida eram preenchidos com heparina (500 U/mL em solução salina - 0,9 g/100mL). O cateter da artéria carótida foi utilizado para a medida da pressão arterial (PA) e coleta de amostras de sangue e o da veia jugular para a infusão de soluções. Durante o procedimento cirúrgico os animais foram mantidos aquecidos (37°C). Após a cirurgia os ratos foram colocados em gaiolas de plástico individuais. O período de recuperação dos animais foi de 3 a 5 dias.

#### **2.4 MEDIDA DA PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC)**

Seis horas antes do início do “clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico (clamp) os animais foram colocados em sala apropriada para a medida da PA na carótida. Esta foi feita com o animal acordado, sem restrição à movimentação, conectando-se o cateter da artéria carótida a um transdutor de pressão (Argon, modelo CDX III, Texas, USA) e a um amplificador (Stemtech Inc. GPA-4 model 2) o qual fornecia um sinal analógico de PA. Este sinal era então digitalizado por um computador com sistema de monitorização (DATAQ Instruments Inc.). Após um período de estabilização, foi realizado registro da PA por aproximadamente 10 minutos. Fazia-se o registro da PA sistólica, PA diastólica, PA média e frequência cardíaca. A média de todos os valores obtidos durante o período de observação foi considerada para o cálculo dos resultados.

#### **2.5 “CLAMP” EUGLICÊMICO HIPERINSULINÊMICO**

O clamp foi realizado em animais acordados e sem restrição da sua atividade. A comida era retirada 6 horas antes do início do experimento, sem restrição à água. Inicialmente foram coletadas amostras de sangue para a determinação da glicose e insulina basais. O método consiste na infusão intravenosa (i.v.) de insulina e glicose durante 120 minutos. Após a coleta das amostras de sangue, iniciava-se a infusão de insulina cristalina (insulina humana monocomponente – Novo Nordisk A/S Bagsvaerd, Dinamarca, 3 mU /kg/min) com velocidade constante no cateter da veia jugular, durante os 120 minutos do experimento. Após cinco minutos do início da infusão de insulina, iniciava-se a infusão de glicose (20g/100mL). A velocidade da infusão de glicose era ajustada para manter a concentração de glicose constante e

igual ao valor basal. A cada 5 minutos, eram coletadas amostras de sangue (50  $\mu$ L) para a determinação da glicose pelo método da fita reativa. A infusão de insulina era constante, tendo como objetivo elevar os níveis de insulina plasmática acima dos níveis basais, inibindo a secreção endógena de insulina. Os trinta minutos finais são considerados como o período de estabilização ou período de “steady-state”. Neste período, a quantidade de glicose infundida pode ser considerada igual à captação periférica de glicose, pois a produção de glicose hepática está praticamente inibida. O clamp tem sido considerado o método padrão para avaliar a sensibilidade à insulina no animal intacto ou em seres humanos. Também foram colhidas amostras de sangue (0,5 mL) para determinação da insulina plasmática nos 75, 90, 105 e 120 minutos. O clamp era realizado em todos os grupos de prole com 12 semanas de idade.

## **2.6 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS**

### **2.6.1 Determinação da insulinemia, glicemia, colesterol e triacilgliceróis**

A dosagem da insulina foi realizada pelo método de radioimunoensaio, tendo sido utilizado o kit da marca LINCO (Rat Insulin Kit, LINCO Research Inc. – St. Charles, MO - USA). A coleta de sangue foi feita na artéria carótida antes e durante o clamp. O sangue coletado foi imediatamente centrifugado para separação do soro. O soro foi estocado a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o momento da dosagem da insulina.

A glicemia foi determinada por meio de tiras reativas (Advantage, Roche Diagnostics Corporation) analisadas em glicosímetro (marca Advantage, Eli Lilly, Boehringer Mannheim), com limite de detecção entre 10 e 600 mg/dL. A glicemia neonatal foi considerada a glicemia detectada até 24 horas de vida do animal.

As dosagens de colesterol e triacilgliceróis foram realizadas pelo método enzimático, tendo sido utilizados “kits” da marca Roche (Cholesterol CHOD-PAP e Triglycerides GPO-PAP, Roche Diagnostics Corporation – Indianápolis, IN – USA). A coleta de sangue foi feita por punção da veia caudal após um jejum noturno. O sangue coletado foi imediatamente centrifugado para separação do soro. O soro foi estocado a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o momento da dosagem.

### **2.6.2 Determinação da excreção urinária de sódio e potássio**

A dosagem de sódio e potássio na urina foi realizada em animais com 3 semanas de idade, imediatamente após o seu desmame, em gaiola metabólica, com restrição de comida e com livre acesso à água. Espectrofotometria de chama foi o método utilizado.

### **2.6.3 Determinação dos níveis plasmáticos e da excreção urinária de nitrato e nitrito (NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>)**

As concentrações plasmáticas e urinárias de NO<sub>2</sub> e NO<sub>3</sub> foram determinados pela reação de Griess, após o tratamento das amostras com nitrato redutase<sup>27-28</sup>.

## **2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

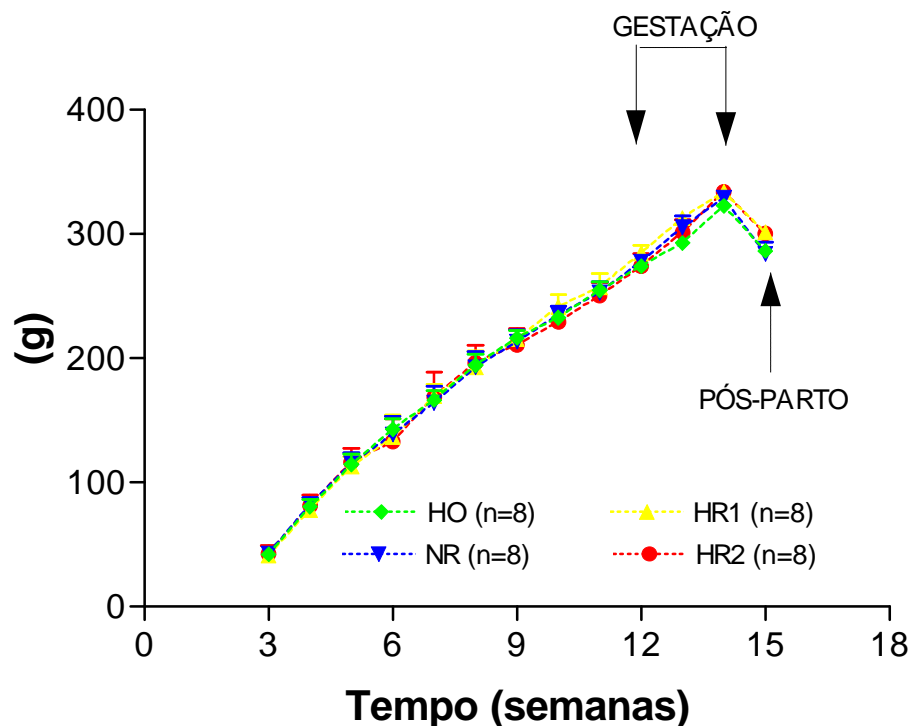
Os valores obtidos foram expressos como média e desvio padrão da média.

Utilizou-se análise de variância de um fator (*one way ANOVA*) para avaliar as diferenças entre as médias dos resultados obtidos nos diversos grupos analisados, seguida do teste de Tuckey para a comparação de três ou mais médias. O cálculo da inclinação da curva de queda da PAc, durante a gestação, foi feito por meio de regressão linear. Também foi utilizada a análise de variância de dois fatores (*two way ANOVA*) para avaliação do peso e da pressão materna e da prole ao longo do tempo. Foi adotado nível de significância estatística  $P < 0.05$ .

### **3. RESULTADOS**

Os resultados na forma de média  $\pm$  desvio padrão da média estão no item RESULTADOS e os valores individuais de cada animal estão em tabelas no ANEXO ao final da tese.

O peso (g) semanal das ratas medido desde o desmame até o término da gestação não foi diferente nos 4 grupos de dieta estudados. A queda de peso observado na última semana do acompanhamento deve-se ao efeito pós-parto. (Figura 3)

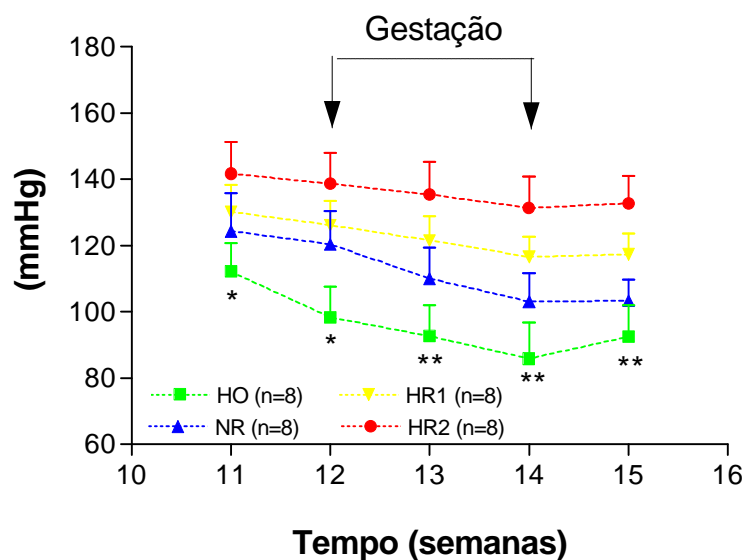


**Figura 3** – Efeito da dieta e do tempo de consumo das mesmas sobre o peso corpóreo, medido em fêmeas que foram submetidas às dietas hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), desde a 8<sup>a</sup> semana de vida até o término da gestação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

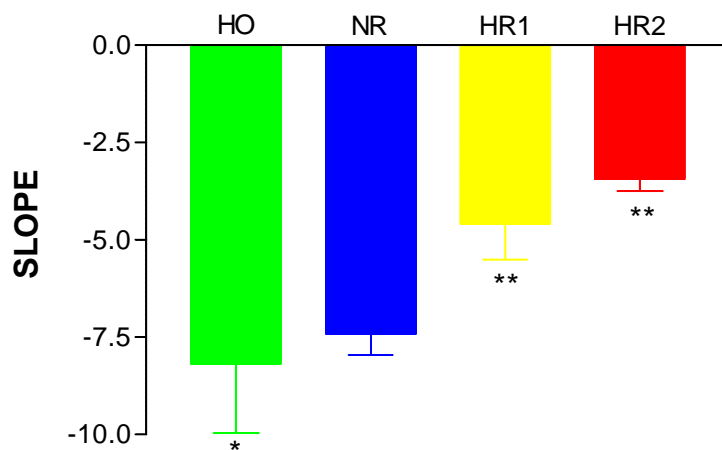
A PAc (mmHg) foi verificada semanalmente antes, durante e após a gestação. Os valores encontrados foram maiores ( $p < 0,001$ ) nas ratas que foram submetidas às dietas HR2 e HR1, quando comparadas aos grupos NR e HO. Mais ainda, a inclinação (“slope”) da curva de queda da pressão da arterial durante a gestação foi menor ( $p < 0,05$ ) nas ratas dos grupos HR2 e HR1 quando comparados aos grupos NR e HO (Figura 4).



A)



B)



**Figura 4** – Painel A: Efeito da dieta sobre a pressão arterial caudal em fêmeas que foram submetidas às dietas hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2) (\*  $p < 0,05$  HO vs. HR2 e HR1, #  $p < 0,05$  HO e NR vs. HR2 e HR1). Painel B: Inclinação da curva de queda da pressão arterial verificada durante a gestação (\* $p < 0,01$  HO vs. HR1 e HR2, \*\* $p < 0,05$  HR1 e HR2 vs. HO e NR). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

Na semana que antecedeu a gestação, não houve diferenças na glicemia (mg/dL) de jejum entre os 4 grupos de dieta estudados. Na 1ª semana de gestação as fêmeas submetidas à dieta HO apresentaram maior glicemia de jejum ( $p < 0,05$ ) comparada ao grupo NR. Na 2ª semana de gestação, o grupo HO apresentou maior glicemia de jejum comparado ao grupo NR ( $p < 0,001$ ) e grupo HR2 ( $p < 0,05$ ). Finalmente, na 3ª semana de gestação, as fêmeas do grupo HO apresentaram maior glicemia de jejum ( $p < 0,05$ ) quando comparadas aos outros 3 grupos (NR, HR1 e HR2). A insulinemia (pm/L) de jejum não foi diferente na semana que antecedeu a gestação nos 4 grupos de dieta estudados. Na 1ª ( $p < 0,05$ ), 2ª ( $p < 0,05$ ) e 3ª semanas ( $p < 0,01$ ) de gestação a insulinemia de jejum foi maior nas ratas submetidas à dieta HO quando comparadas aos outros grupos de dieta estudados (Tabela 1).

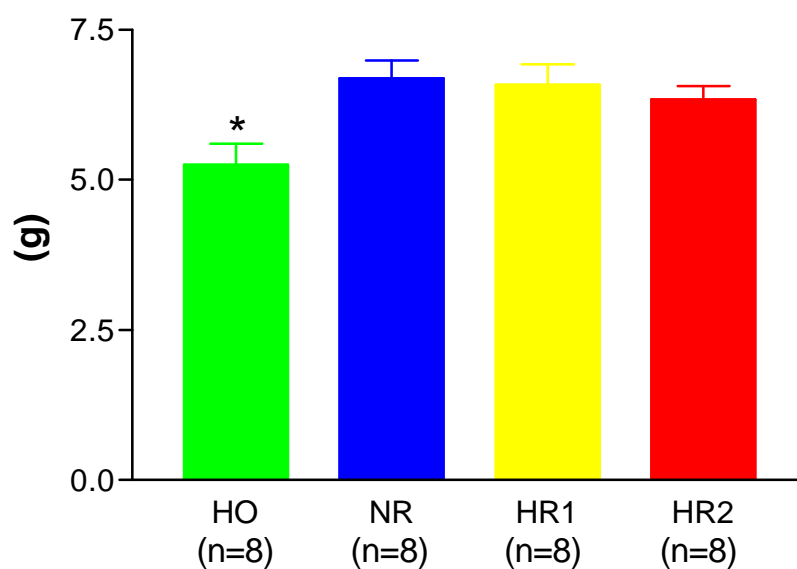
**Tabela 1.** Glicemia e insulinemia de jejum antes e durante as 3 semanas de gestação em ratas submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>HO</b>	<b>n</b>	<b>NR</b>	<b>n</b>	<b>HR1</b>	<b>n</b>	<b>HR2</b>	<b>n</b>
<b>GLICEMIA, mg/dL</b>								
Pré-gestação	85,5±2	4	74±12	9	77,5±2	4	77,2±5	4
1 <sup>a</sup> semana	93,5±15*	4	72,6±9	9	77±3,5	4	79,2±6,3	4
2 <sup>a</sup> semana	108±4**	4	70±9	9	89±21	4	80±4	4
3 <sup>a</sup> semana	116±3***	4	73±11	9	81±18	4	83±6	4
<b>INSULINEMIA, pm/L</b>								
Pré-gestação	646,8±39	4	649,4±32	9	669,4±21	4	635,3±37	4
1 <sup>a</sup> semana	795±54 <sup>#</sup>	4	674±38	9	692±45	4	689±11	4
2 <sup>a</sup> semana	826±16 <sup>#</sup>	4	717±61,8	9	715±49,4	4	707±58,7	4
3 <sup>a</sup> semana	900±38,6 <sup>##</sup>	4	774±24	9	784±26	4	771±41	4

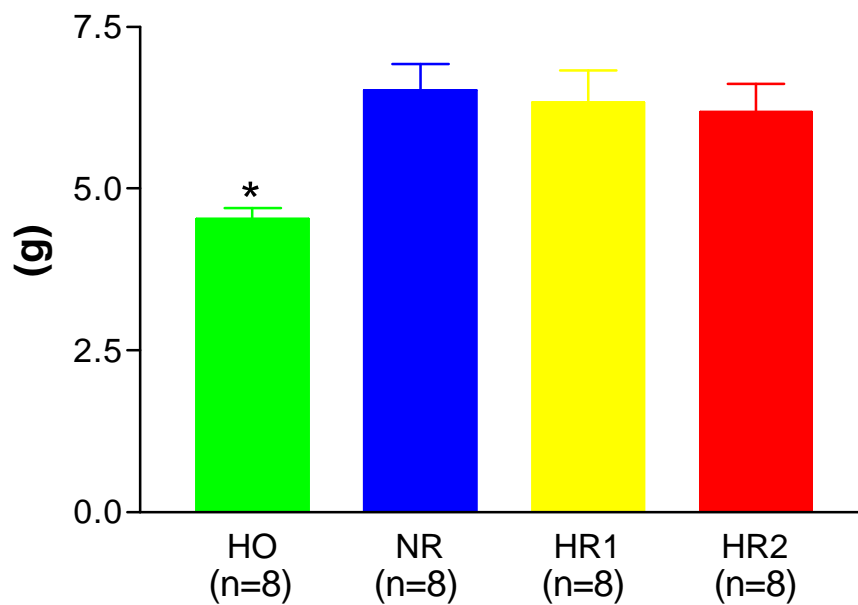
Resultados em média ± desvio padrão da média \* $p < 0.05$  vs. NR, \*\* $p < 0.001$  vs. NR, \*\*\* $p < 0.05$  vs. NR, HR1, e HR2, <sup>#</sup> $p < 0.05$  vs. NR, HR1, e HR2, <sup>##</sup> $p < 0.01$  vs. NR, HR1, e HR2.

## GRUPO PROLE

O peso ao nascimento foi menor ( $p < 0,001$ ), tanto em prole feminina como em masculina, cujas mães foram submetidas à dieta HO comparada às proles de mães NR, HR1 e HR2 (Figuras 5 e 6).

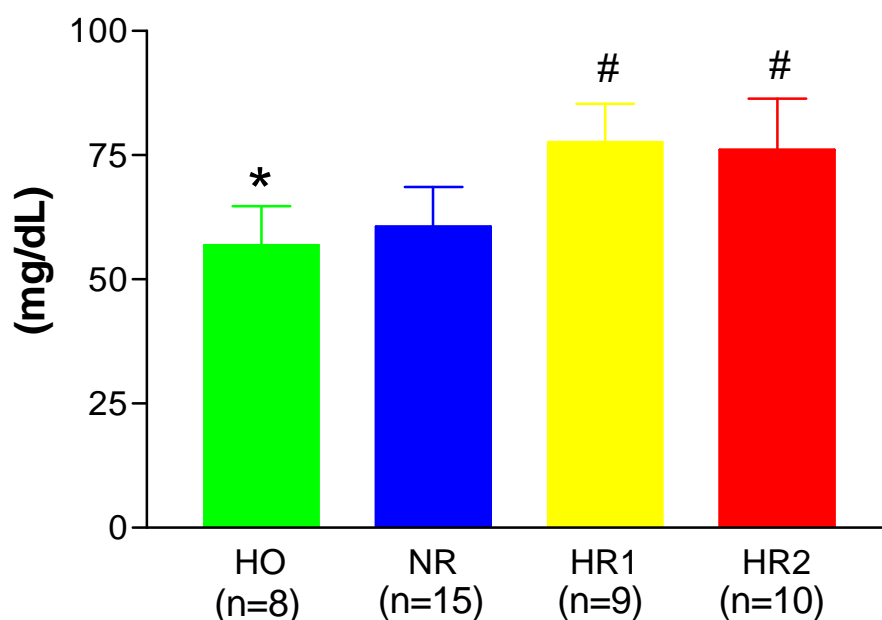


**Figura 5** – Peso ao nascimento de prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica HO, normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,001$  vs NR, HR1 e HR2). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

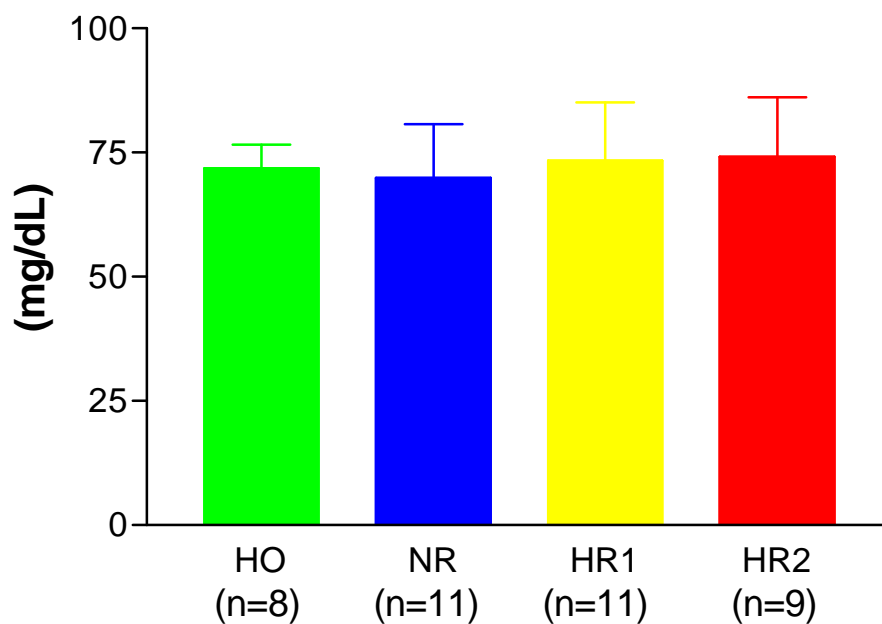


**Figura 6** – Peso ao nascimento de prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,001$  vs. NR, HR1 e HR2). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

A glicemia neonatal (mg/dL), medida até 24 horas após o nascimento, foi menor ( $p < 0,001$ ) em prole masculina cujas mães foram submetidas à dieta HO quando comparada às proles de mães HR1 e HR2. A glicemia neonatal da prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta HR1 e HR2, foi maior ( $p < 0,001$ ) quando comparada ao grupo de dieta materna NR. A glicemia neonatal das proles femininas não foi diferente entre os grupos estudados (Figuras 7 e 8).



**Figura 7** – Glicemia neonatal de prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,001$  vs. HR1 e HR2, #  $p < 0,001$  vs. NR). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



**Figura 8** – Glicemia neonatal de prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

Resultados obtidos em gaiola metabólica, realizados em prole com 3 semanas de vida, verificaram uma maior massa excretada de sódio ( $p < 0,001$ ) e menor de potássio ( $p < 0,05$ ) na urina em prole masculina de ratas submetidas às dietas HR1 e HR2 quando comparada aos grupos HO e NR (Tabela 2). Em prole feminina de ratas submetidas às dietas HR1 e HR2 observou-se, também, uma maior massa excretada de sódio ( $p < 0,01$ ) e menor de potássio ( $p < 0,01$ ) na urina quando comparada aos grupos HO e NR (Tabela 2). A massa excretada de NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> na urina de 24 horas foi menor ( $p < 0,05$ ) em prole masculina de ratas submetidas à dieta HO quando comparada à prole de mães HR2. A massa excretada de NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> na urina de 24 horas foi maior tanto em prole masculina como feminina ( $p < 0,05$ ) de ratas submetidas às dietas HR2 quando comparada à prole de mães NR. O NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> plasmático, medido na prole com 12 semanas de idade, não foi diferente nos 4 grupos de dieta estudados (Tabela 3).



**Tabela 2.** Excreção urinária de sódio e potássio, diurese (mL/24h) e ingestão hídrica (mL/24h) em prole de 3 semanas de vida, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 ou HR2, durante a gestação e lactação.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>HO</b>	<b>n</b>	<b>NR</b>	<b>n</b>	<b>HR1</b>	<b>n</b>	<b>HR2</b>	<b>n</b>
<b>PROLE MASCULINA</b>								
Na <sup>+</sup> urinário (mEq/24h)	6,3±3,5*	8	37,8±15,7	8	93±17 <sup>++</sup>	8	170±23 <sup>+</sup>	8
K <sup>+</sup> urinário (mEq/24h)	213±26*	8	113±44	8	57±17 <sup>+++</sup>	8	55,7±15 <sup>###</sup>	8
Volume urinário	3,5±1**	8	4,6±1,7	8	9,3±4,5	8	13,8±6	8
Ingestão hídrica	3,5±1**	8	4,1±2	8	7,5±3,8	8	8,7±3,3	8
<b>PROLE FEMININA</b>								
Na <sup>+</sup> urinário (mEq/24h)	7,2±3*	8	40,8±21	8	97±25 <sup>#</sup>	8	135±50 <sup>##</sup>	8
K <sup>+</sup> urinário (mEq/24h)	220±27*	8	117,4±44	8	53,7±13 <sup>##</sup>	8	45,7±8.5 <sup>#</sup>	8
Volume urinário	5,3±1	8	4,9±1,6	8	7,7±3,8	8	10,7±1	8
Ingestão hídrica	3,5±1	8	5±3	8	7,3±3,5	8	8,5±5 <sup>***</sup>	8

Resultados em média ± desvio padrão da média \* $p < 0.001$  vs. NR, HR1, e HR2, <sup>#</sup> $p < 0.01$  vs. HO e NR, <sup>##</sup> $p < 0.001$  vs. HO e NR, <sup>###</sup> $p < 0.05$  vs. HO e NR, <sup>\*\*</sup> $p < 0.05$  vs. HR1, e HR2, <sup>\*\*\*</sup> $p < 0.05$  vs. HO, <sup>+</sup> $p < 0,001$  vs. HO,NR e HR1, <sup>++</sup> $p < 0,001$  vs. HO e NR, <sup>+++</sup> $p < 0,01$  vs. HO e NR.

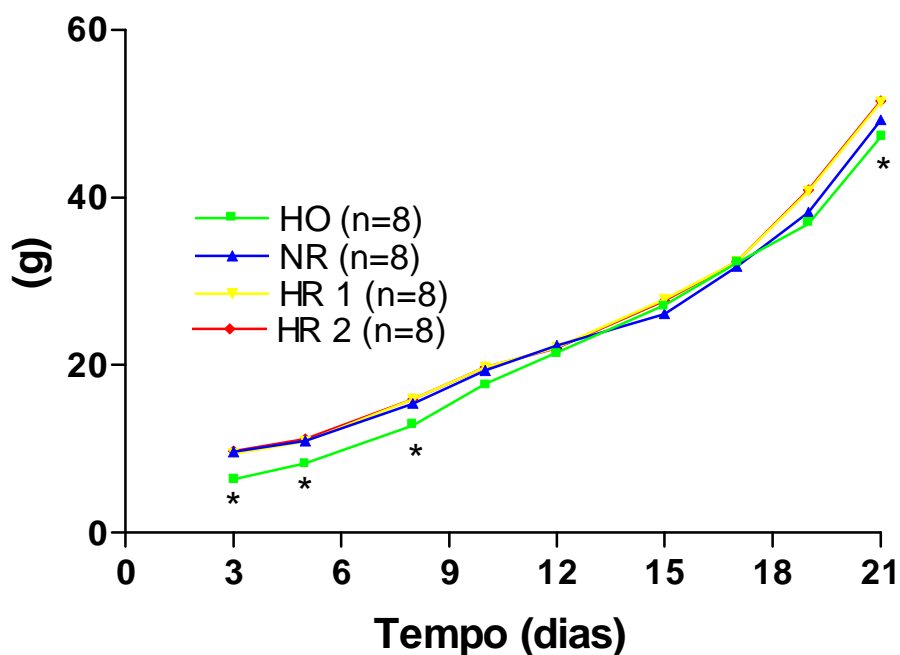
**Tabela 3.** Excreção urinária de 24 horas de NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> em prole de 3 semanas de vida, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 ou HR2, durante a gestação e lactação. NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> plasmático em prole de 12 semanas de vida, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 ou HR2, durante a gestação e lactação.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>HO</b>	<b>n</b>	<b>NR</b>	<b>n</b>	<b>HR1</b>	<b>n</b>	<b>HR2</b>	<b>n</b>
<b>PROLE MASCULINA</b>								
NO <sub>2</sub> /NO <sub>3</sub> urinário (μmoles/24 horas)	0,26±0,06*	8	0,31±0,07	8	0,55±0,16	8	0,82±0,18**	8
NO <sub>2</sub> /NO <sub>3</sub> plasma (μmoles/24 horas)	44,2±5,9	8	44,2±6,3	8	42,62±9,3	8	43,45±4	8
<b>PROLE FEMININA</b>								
NO <sub>2</sub> /NO <sub>3</sub> urinário (μmoles/24 horas)	0,24±0,03	8	0,34±0,03	8	0,46±0,14	8	0,48±0,11 <sup>#</sup>	8
NO <sub>2</sub> /NO <sub>3</sub> plasma (μmoles/24 horas)	42,1±3,8	8	43,8±3,1	8	44,7±5,2	8	47,2±4,2	8

Resultados em média ± desvio padrão da média \* $p < 0.05$  vs. HR2, \*\* $p < 0.05$  vs. NR,

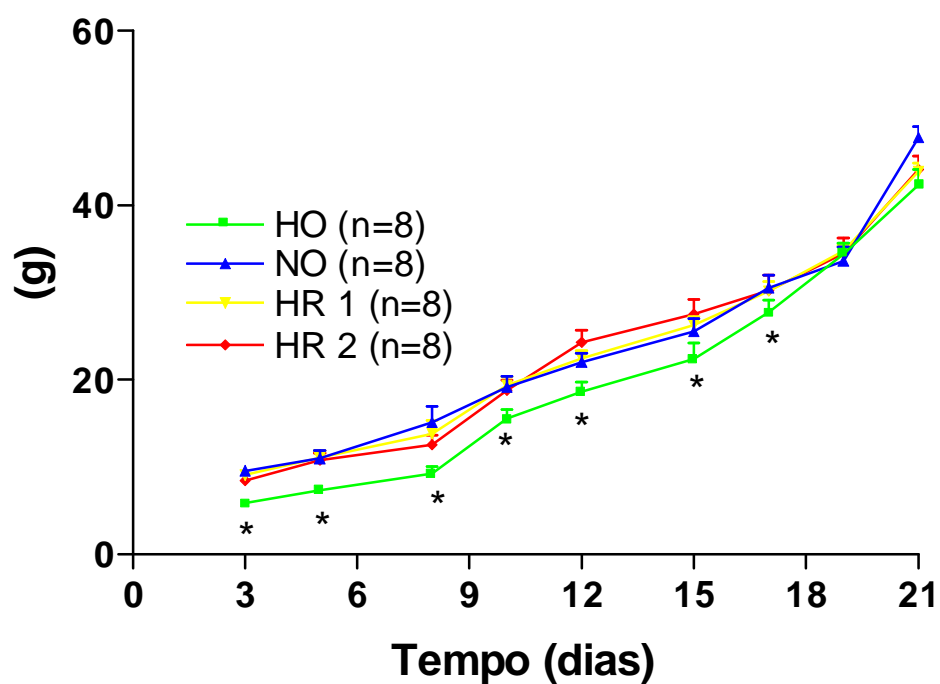
<sup>#</sup> $p < 0.05$  vs. NR.

Durante a lactação, o peso da prole foi avaliado a cada 3 dias até o seu desmame. A prole masculina de ratas submetidas à dieta HO apresentou menor ( $p < 0,05$ ) peso corpóreo nos dias 3, 5, 8 e 21 quando comparado aos grupos NR, HR1 e HR2. (Figura 9)



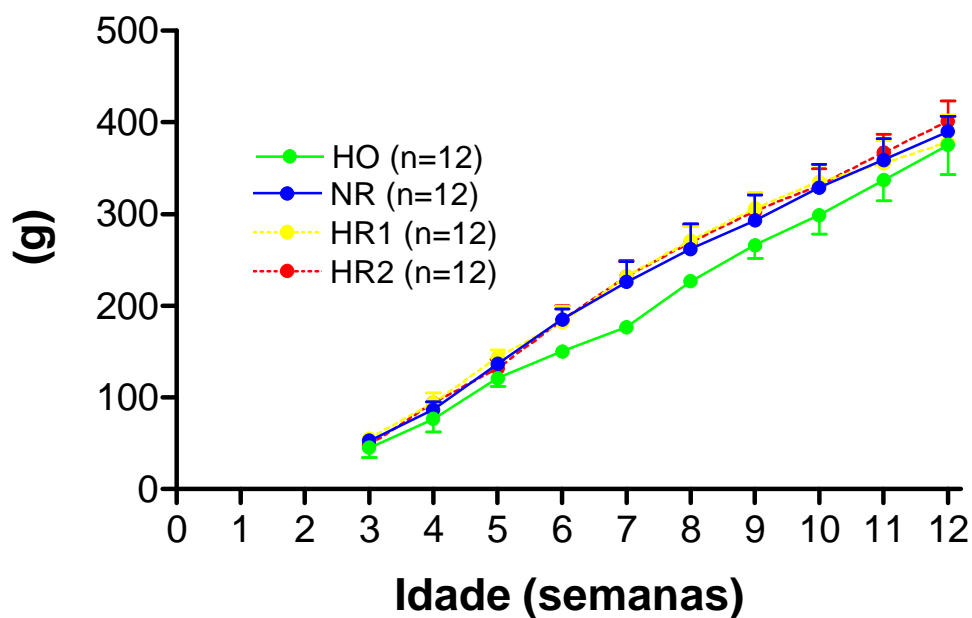
**Figura 9** – Peso corpóreo, avaliado a cada 3 dias em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação ( $*p < 0,05$  vs. NR, HR1 e HR2). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

A prole feminina de ratas submetidas à dieta HO apresentou menor ( $p < 0,05$ ) peso corpóreo nos dias 3, 5, 8, 10, 12, 15 e 17 quando comparado aos grupos NR, HR1 e HR2. (Figuras 10)

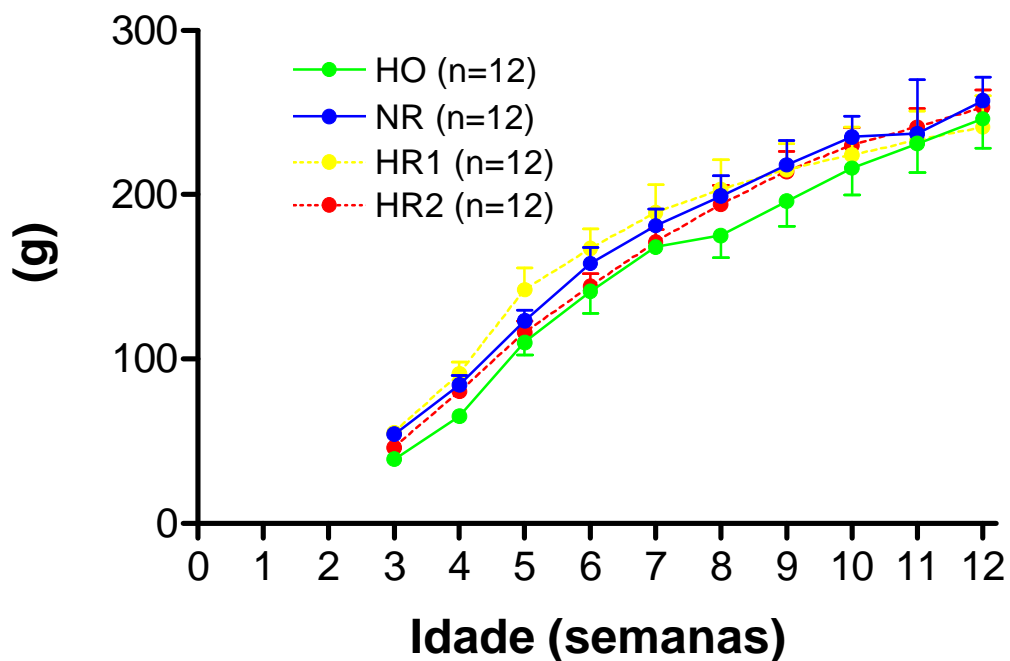


**Figura 10** – Peso corpóreo, avaliado a cada 3 dias em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação ( $*p < 0,05$  vs. NR, HR1 e HR2). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

Após o desmame da prole, todos os animais foram exclusivamente alimentados com dieta NR e o peso foi verificado semanalmente. O peso da prole, tanto masculina como feminina, nos 4 grupos de dieta estudados não foi diferente durante o período de avaliação (Figuras 11 e 12).

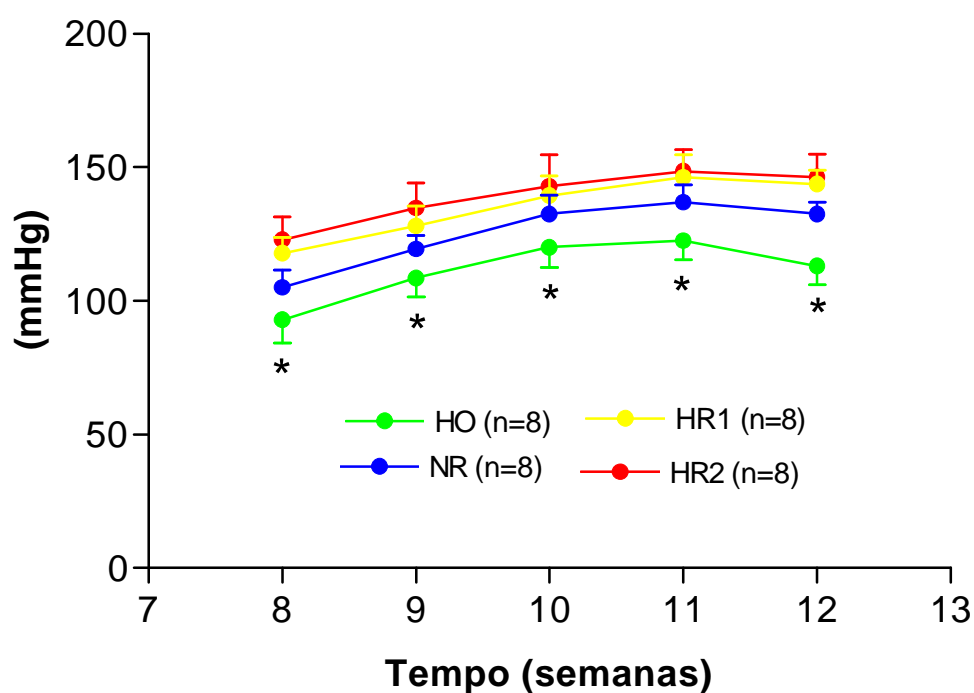


**Figura 11** – Peso corpóreo, avaliado semanalmente, da 3ª a 12ª semana de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

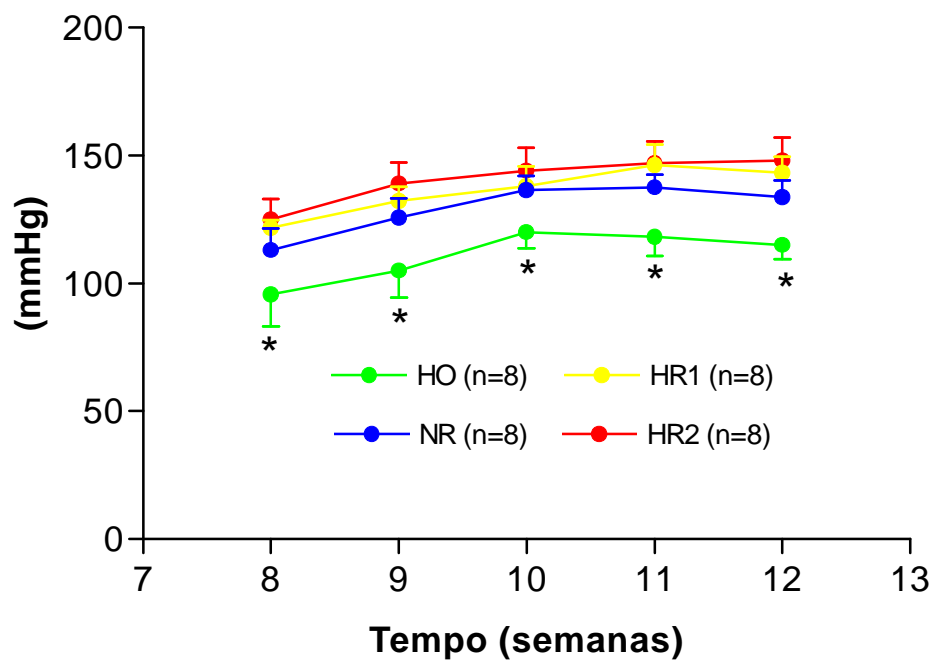


**Figura 12** – Peso corpóreo, avaliado semanalmente, da 3<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semana de vida, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

A pressão arterial caudal foi avaliada da 8<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semana de vida. Tanto a prole masculina quanto a feminina, cujas mães foram submetidas à dieta HO, apresentaram menores ( $p < 0,05$ ) valores de PAc durante o período avaliado (Figuras 13 e 14).



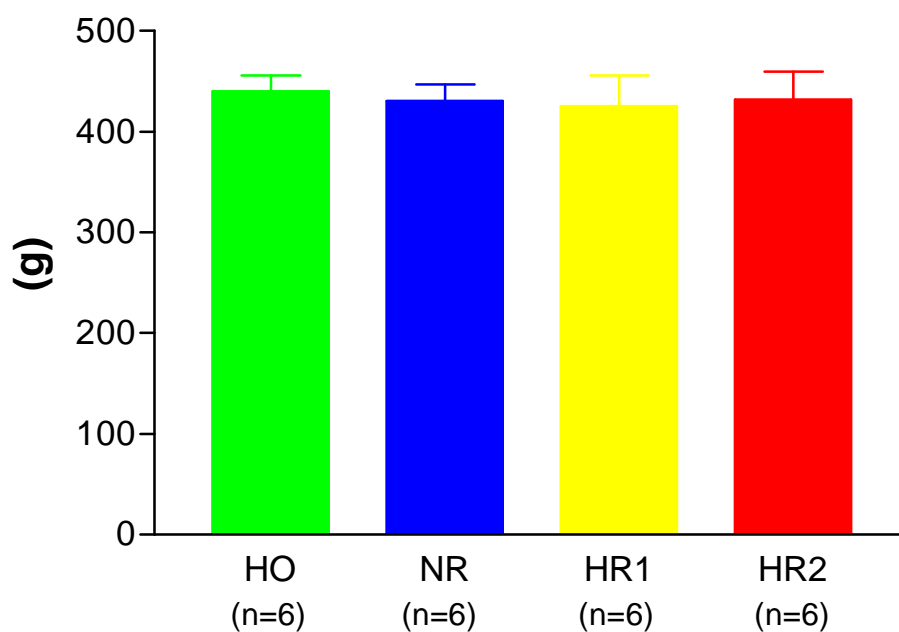
**Figura 13** – Pressão arterial caudal, avaliada semanalmente, da 8<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semana de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,05$  HO vs. NR, HR1 e HR2). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



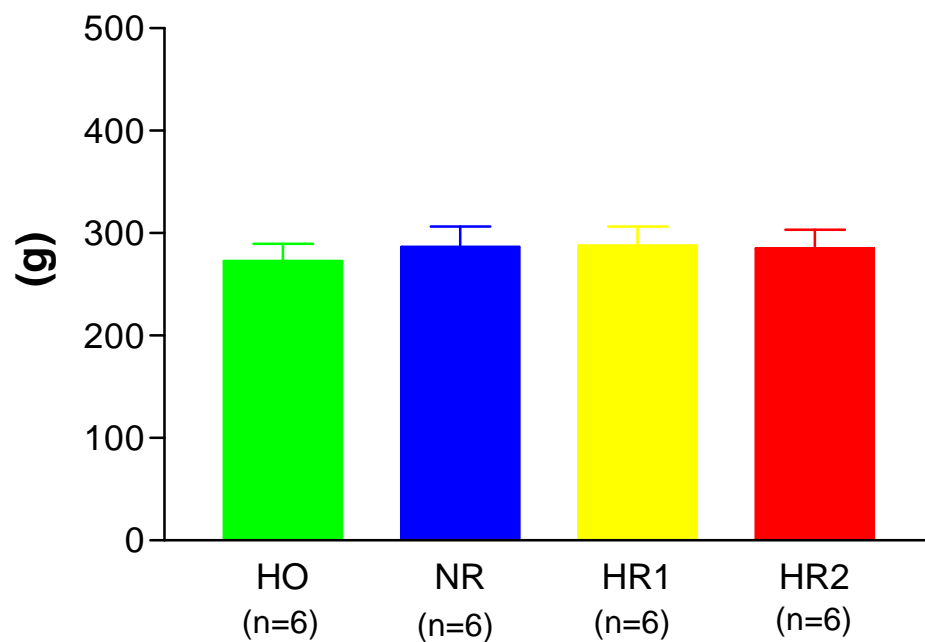
**Figura 14** – Pressão arterial caudal, avaliada semanalmente, da 8<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semana de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,05$  HO vs. NR, HR1 e HR2). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



O peso corpóreo verificado no dia do CLAMP não foi diferente entre os grupos, tanto em prole masculina quanto em feminina (Figuras 15 e 16).

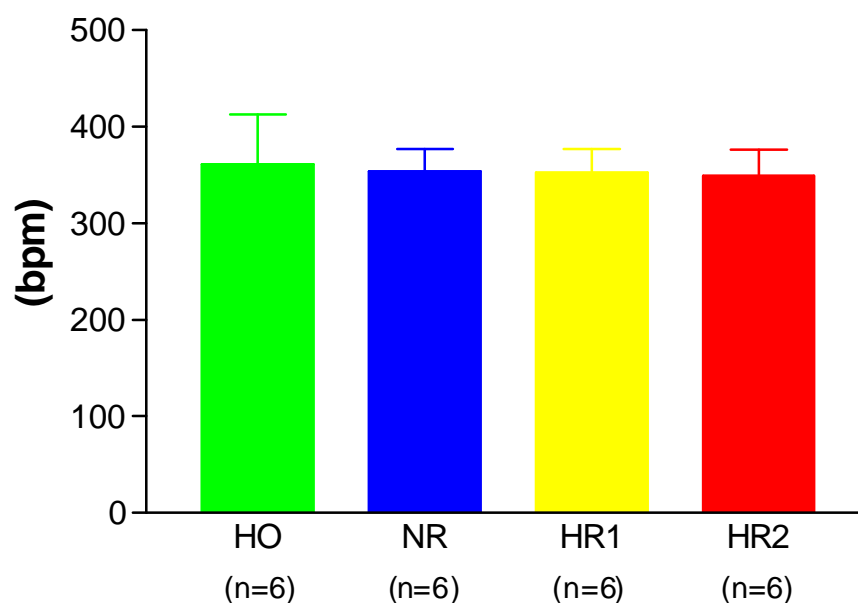


**Figura 15** – Peso corpóreo, avaliado no dia do CLAMP, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

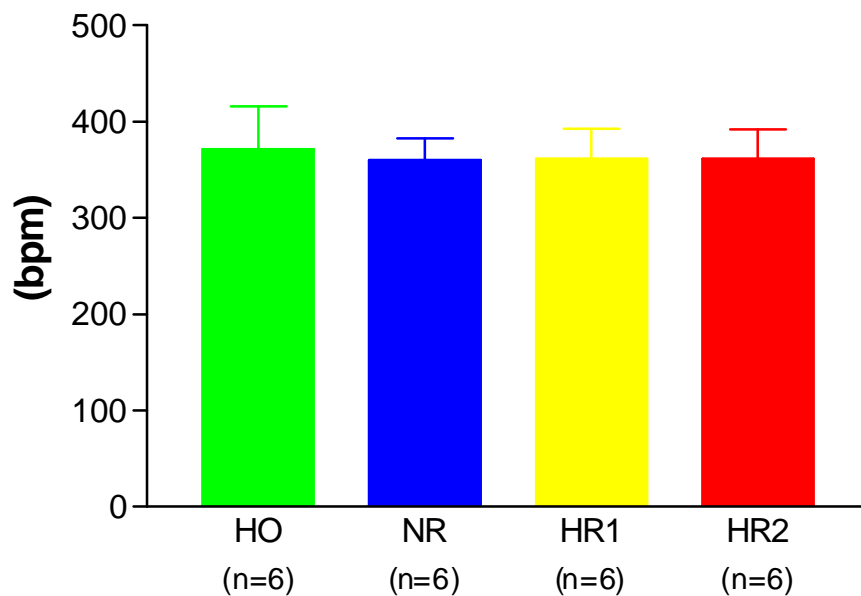


**Figura 16** – Peso corpóreo, avaliado no dia do CLAMP, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

A frequência cardíaca (bpm – batimentos por minuto), avaliada no dia do CLAMP, não foi diferente entre os quatros grupos estudados, tanto em prole masculina quanto feminina. (Figuras 17 e 18)

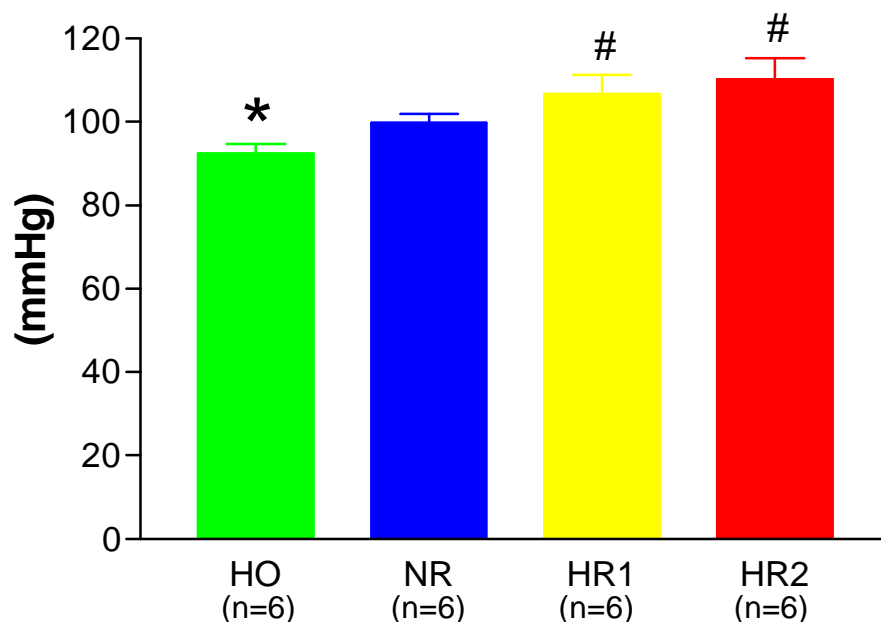


**Figura 17** – Frequência cardíaca (bpm-batimentos por minuto), avaliada no dia do CLAMP, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



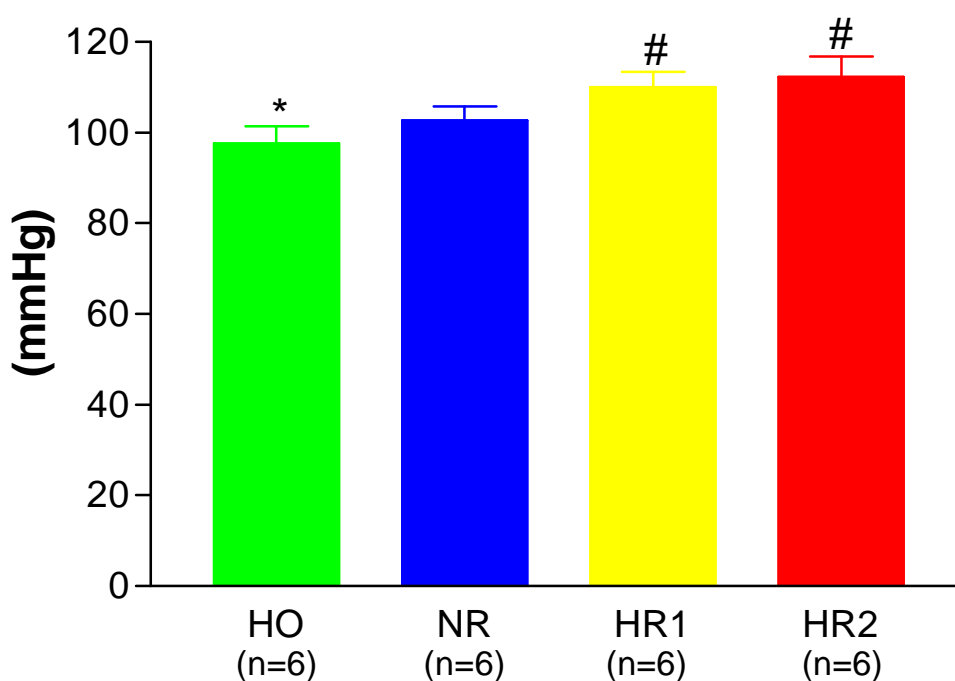
**Figura 18** – Frequência cardíaca (bpm–batimentos por minuto), avaliada no dia do CLAMP, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

A pressão arterial direta, verificada no dia do CLAMP, foi menor ( $p < 0,05$ ) na prole masculina cujas mães foram submetidas à dieta HO quando comparada à prole de mães NR, HR1 e HR2. A prole masculina cujas mães foram submetidas à dieta HR1 e HR2, apresentou pressão arterial direta maior ( $p < 0,05$ ), quando comparada à prole de mães NR (Figura 19).



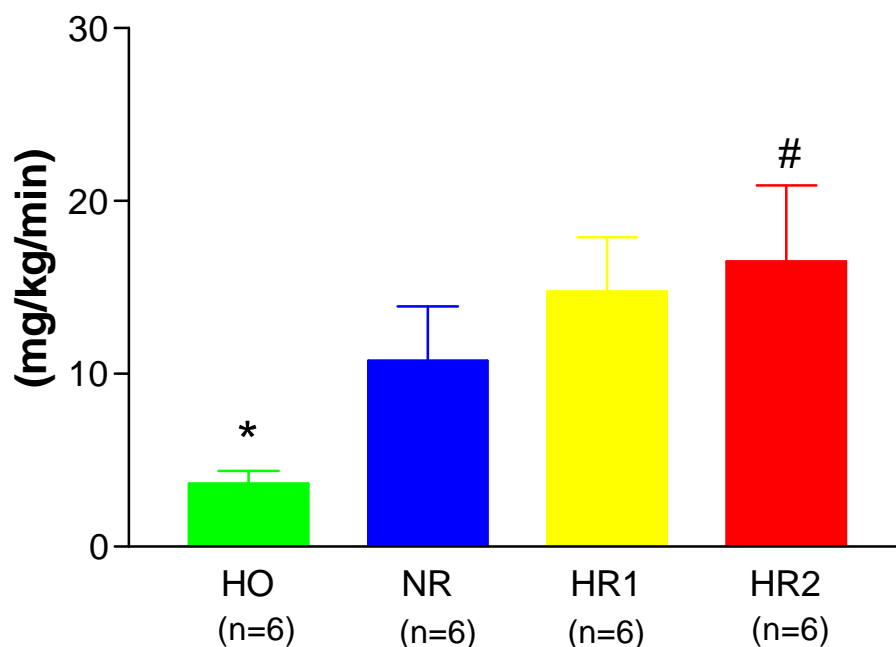
**Figura 19** – Pressão arterial direta, verificada no dia do CLAMP, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,05$  vs. NR, HR1 e HR2, #  $p < 0,05$  vs. NR  $p < 0,05$ ). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

A pressão arterial direta, verificada no dia do CLAMP, foi menor ( $p < 0,001$ ) em prole feminina cujas mães foram submetidas à dieta HO quando comparado à prole de mães HR1 e HR2. A prole feminina cujas mães foram submetidas à dieta HR1 e HR2, apresentou pressão arterial direta maior ( $p < 0,05$ ), quando comparada à prole de mães NR (Figura 20).

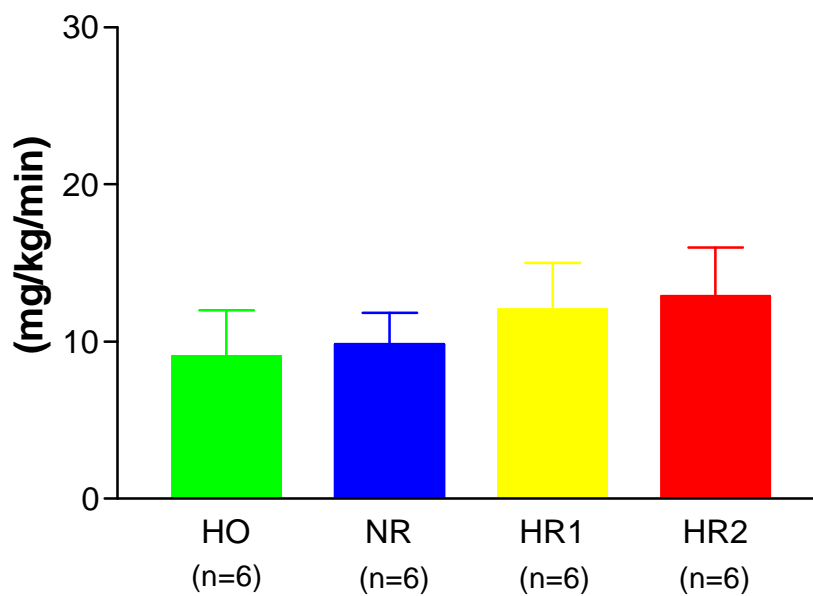


**Figura 20** – Pressão arterial direta, verificada no dia do CLAMP, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,001$  vs. HR1 e HR2, #  $p < 0,05$  vs. NR). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

O consumo de glicose foi menor ( $p<0,01$ ) em prole masculina cujas mães foram submetidas à dieta HO, quando comparada às proles de mães NR, HR1 e HR2. A prole masculina de mães HR2 apresentou maior ( $p<0,05$ ) sensibilidade à insulina do que a prole de mães NR. O consumo de glicose não foi diferente entre os quatro grupos de proles femininas. (Figuras 21 e 22)



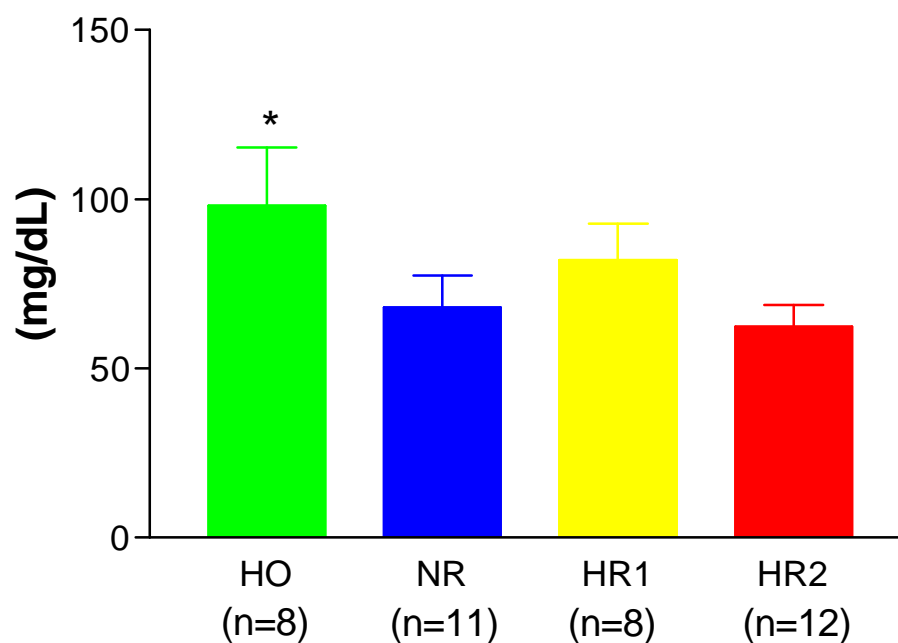
**Figura 21** – Consumo de glicose, avaliado por meio de “clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico, em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p<0,01$  vs. NR, HR1 e HR2, #  $p<0,05$  vs. NR). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



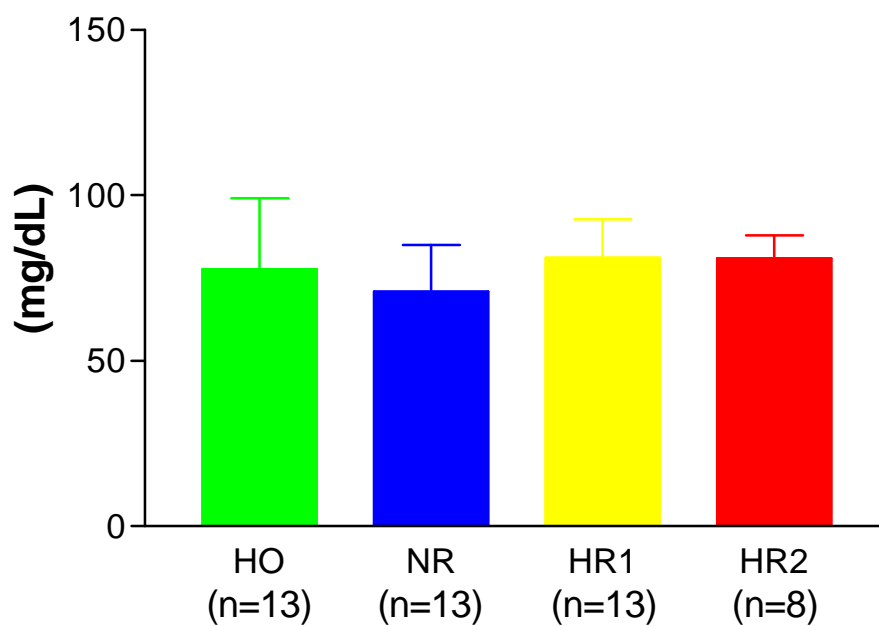
**Figura 22** – Consumo de glicose, avaliado por meio de “clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico, em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



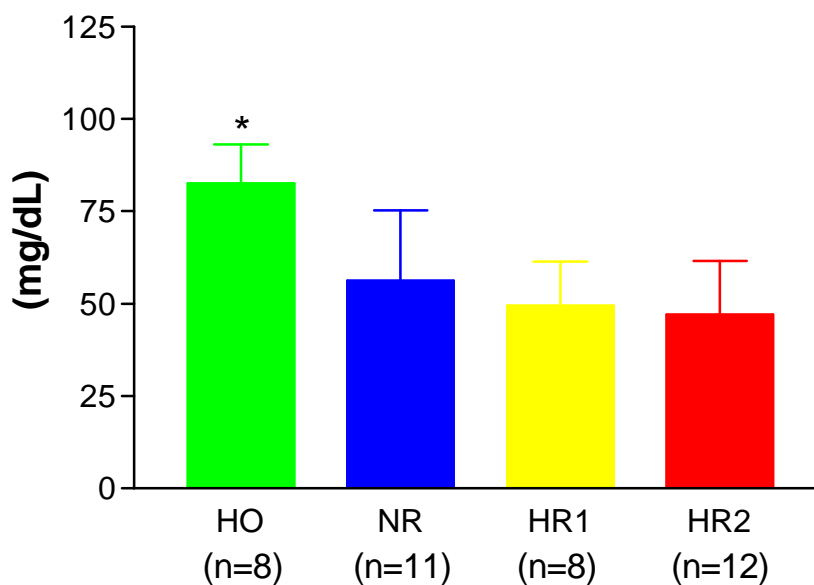
A prole masculina cujas mães foram submetidas à dieta HO apresentou maiores concentrações plasmáticas de colesterol ( $p < 0,05$ ) e triacilgliceróis ( $p < 0,01$ ), quando comparada às proles cujas mães foram submetidas às dietas NR, HR1 e HR2. As concentrações de colesterol e triacilgliceróis não foram diferentes na prole feminina (Figuras 23, 24, 25 e 26).



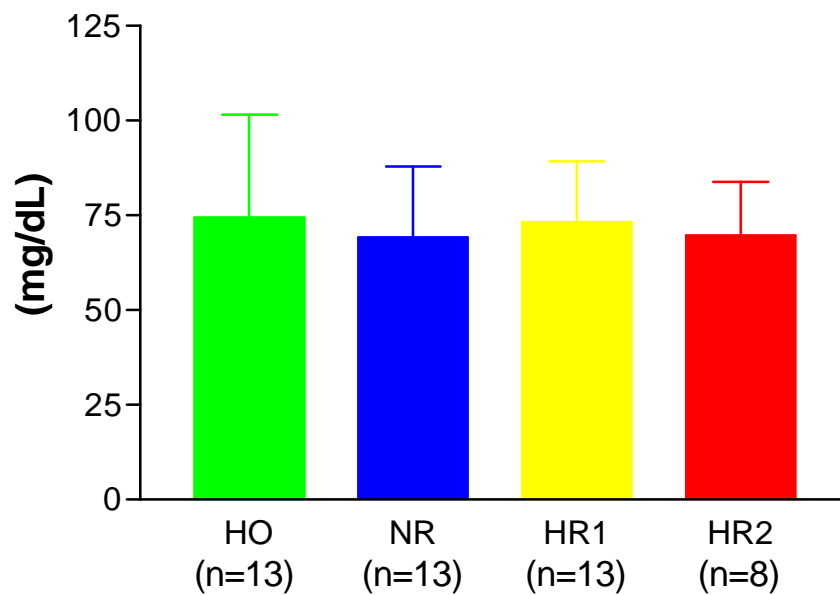
**Figura 23** – Colesterol plasmático avaliado em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,05$  vs. NR, HR1 e HR2). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



**Figura 24** – Colesterol plasmático avaliado em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



**Figura 25** – Triacilgliceróis plasmáticos avaliados em prole masculina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação (\*  $p < 0,01$  vs. NR, HR1 e HR2). Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.



**Figura 26** – Triacilgliceróis plasmáticos avaliados em prole feminina, cujas mães foram submetidas à dieta hipossódica (HO), normossódica (NR), hipersódica 1 (HR1) ou hipersódica 2 (HR2), durante a gestação e lactação. Resultados em média  $\pm$  desvio padrão da média.

#### **4. RESUMO DOS RESULTADOS**

Os principais resultados encontrados no presente estudo foram:

##### **GRUPO MATERNO**

- 1) Ratas submetidas à sobrecarga de sal (HR1 e HR2) apresentaram maior pressão arterial antes, durante e após a gestação.
- 2) Ratas submetidas à restrição de sal (HO) apresentaram maior glicemia e maior insulinemia de jejum durante a gestação. Estas alterações representam um estado de resistência à insulina durante este período.

##### **GRUPO PROLE**

- 1) A prole de ratas submetidas à sobrecarga de sal na dieta (HR1 e HR2) apresentou maior pressão arterial com 12 semanas de idade. Ao desmame apresentou maior excreção urinária de sódio e de NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>.
- 2) A prole de ratas submetidas à restrição de sal (HO) apresentou menor peso ao nascimento. Ao desmame, apresentou menor excreção urinária de sódio e NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>. Na vida adulta, a prole masculina apresentou menor pressão

arterial caudal da 8ª a 12ª semana de vida, menor sensibilidade à insulina e maiores concentrações plasmáticas de colesterol e triacilgliceróis.

## 5. DISCUSSÃO

O presente estudo mostra uma associação, ainda não descrita na literatura, entre restrição de sal durante o período perinatal e resistência à insulina associada a alterações do perfil lipídico na vida adulta. Estas alterações são observadas apenas na prole masculina. Também foi verificado que, tanto em prole masculina como em feminina, uma sobrecarga de sal na dieta durante a gestação e lactação está associada com pressão arterial elevada na vida adulta.

A menor sensibilidade à insulina na vida adulta pode ser explicada por modificações precoces no metabolismo de glicose <sup>29-31</sup>. O presente estudo corrobora com esta evidência quando mostra uma associação entre restrição de sal durante o período perinatal e baixo peso ao nascimento associado a menor glicemia neonatal na prole masculina, quando comparada aos grupos de sobrecarga salina. Vickers e col. utilizando um modelo de restrição protéico-calórica em ratas Wistar grávidas, demonstrou presença de baixo peso ao nascimento associado a hiperinsulinemia e hiperleptinemia na prole adulta <sup>32</sup>. Os autores sugerem que a redução de nutrientes pode desencadear alterações permanentes no desenvolvimento do pâncreas fetal e na resposta tecidual à ação da insulina, especialmente em tecido adiposo, resultando em

resistência à insulina na vida adulta.. De fato, a associação entre baixo peso ao nascimento e alteração no metabolismo de carboidratos na vida adulta é bem estabelecida na literatura tanto em estudos epidemiológicos <sup>33,34</sup> como em modelos experimentais <sup>35</sup>.

O presente trabalho também mostra uma associação entre restrição crônica de sal na dieta materna com maiores concentrações de glicose e insulina de jejum durante a gestação, o que permite afirmar a existência de uma situação de resistência à insulina materna. Adaptações fetais frente a modificações do ambiente intra-uterino, especialmente hiperglicemia materna, podem gerar hiperinsulinemia fetal. Esta hiperinsulinemia é uma resposta ao aumento da glicose plasmática fetal decorrente da maior oferta através da circulação feto-placentária. No momento em que o feto deixa o ambiente materno, a homeostase existente no metabolismo de glicose fetal desaparece, podendo ocorrer hipoglicemia neonatal devido à elevada insulina plasmática ainda presente, resquício da vida intra-uterina. Tal fenômeno já foi descrito em humanos <sup>36</sup> e em animais de experimentação <sup>37</sup>. A hiperinsulinemia fetal também pode explicar o aparecimento de glicemia neonatal reduzida e mais tardiamente resistência à insulina <sup>38</sup>. Tais alterações no metabolismo da glicose e da insulina em fases precoces do desenvolvimento podem comprometer a estrutura e função do pâncreas endócrino e/ou de tecidos responsáveis pela captação de glicose em resposta à insulina. As mencionadas alterações estruturais e/ou funcionais podem persistir e favorecerem o aparecimento de resistência à insulina na vida adulta <sup>38</sup>.

Um outro mecanismo sugerido para explicar a resistência à insulina na prole é a hipótese conhecida como “Thrifty Phenotype” <sup>39</sup>. Segundo esta teoria, fetos com restrição de crescimento intra-uterino apresentam uma tendência a otimizar a

utilização de nutrientes durante o período perinatal, como uma estratégia para a sua sobrevivência. No entanto, após o nascimento e durante a vida adulta, estes indivíduos continuam a otimizar a utilização, mesmo frente a uma oferta exagerada de nutrientes<sup>39</sup>. Macacos Rhesus tornados hiperinsulinêmicos por infusão de insulina durante a vida intra-uterina, desenvolveram intolerância à glicose quando adultos<sup>40</sup>. Vale lembrar que o presente trabalho mostrou uma associação entre restrição crônica de sal na dieta com maiores concentrações de glicose e insulina de jejum durante a gestação, podendo este ser um mecanismo envolvido nas alterações metabólicas observadas na prole adulta.

Uma possível explicação para o menor peso corpóreo ao nascimento em prole de ratas que se alimentaram com dieta pobre em sal é o efeito desta dieta sobre o sistema cárdio-circulatório. Entre as alterações hemodinâmicas observadas durante a gestação há, tanto em humanos como em animais, uma expansão volêmica, que pode atingir 40% do volume plasmático, o que contribui para o aumento do fluxo de sangue materno-placentário<sup>41</sup>. Roy-Clavel e col., utilizando restrição salina em ratas Sprague-Dawley grávidas, mostraram baixo peso ao nascimento associado à diminuição do volume plasmático das mães e peso da placenta<sup>41</sup>. Os autores sugerem que restrição no consumo de sal durante a gestação representa um modelo experimental para o estudo da relação existente entre volume plasmático e crescimento fetal. Um outro aspecto merecedor de comentário é a importância da oferta de oxigênio e nutrientes através da placenta, e sua repercussão sobre o peso corpóreo da prole ao nascimento. Como mencionado, a dieta hipossódica na gestação pode diminuir o volume plasmático, reduzindo o fluxo sanguíneo e a oferta de nutrientes e oxigênio para o feto, resultando em baixo peso ao nascimento<sup>41</sup>.



Ao final do desmame, apenas a prole masculina permaneceu com menor peso corpóreo quando comparada aos grupos NR, HR1 e HR2. Após a quarta semana de idade, estas diferenças desapareceram. Este fenômeno, conhecido como “catch-up growth”, já foi descrito tanto em estudos envolvendo humanos <sup>42</sup>, como em animais de experimentação <sup>43</sup>. Esta velocidade de crescimento acelerada pode, no entanto, ser deletéria para o organismo, podendo interferir na formação e, posteriormente, na função de determinados órgãos e tecidos, tendo como consequência final o aparecimento de doenças na vida adulta <sup>44</sup>. Conforme estudos de outros laboratórios, o baixo peso ao nascimento e o fenômeno do “catch-up growth” podem representar, neste modelo experimental, o elo existente entre restrição de sal durante o período perinatal e resistência à insulina na prole durante a vida adulta <sup>42</sup>.

O aumento do colesterol e triacilgliceróis plasmáticos pode ser uma consequência direta da resistência à insulina, uma vez que estudos epidemiológicos mostram uma associação existente entre resistência à insulina e dislipidemia <sup>45</sup>. Esta associação é independente da presença de obesidade e é mantida, mesmo na presença de concentrações de triacilgliceróis consideradas normais para o acompanhamento clínico <sup>45</sup>.

O fato de estas alterações ocorrerem apenas na prole masculina pode estar relacionado a fatores hormonais <sup>46</sup>. Estudos epidemiológicos e modelos experimentais mostram evidências na influência dos esteróide sexuais sobre a sensibilidade à insulina e dislipidemias <sup>46</sup>. Sugden e col.<sup>47</sup>, utilizando modelo de restrição protéica em ratas Wistar grávidas, mostrou presença de resistência à insulina somente na prole masculina com 20 semanas de vida. Outros estudos são necessários para esclarecer os mecanismos responsáveis por estas diferenças.

Uma outra observação na prole adulta foi a maior pressão arterial no grupo cujas mães foram alimentadas com dieta hipersódica 1 e 2. Estes resultados confirmam achados prévios obtidos em nosso laboratório e por outros autores <sup>25,48,49</sup>. Um dos possíveis mecanismos envolvidos nesta associação é uma alteração funcional do sistema renina-angiotensina. Silva e col., utilizando um protocolo experimental semelhante, mostraram que a prole adulta de ratas submetidas à dieta HR2, apresentava uma maior concentração de angiotensina II renal e uma resposta inadequada da atividade de renina plasmática, frente a uma restrição de sal na dieta <sup>25</sup>. Os autores sugerem que o aumento de angiotensina II intra-renal, que pode estar associada ao desvio da curva de natriurese pressórica, talvez seja responsável pelo aumento da pressão arterial.

Uma outra hipótese possível para explicar o aparecimento de incremento na pressão arterial na vida adulta pode estar associada à exposição precoce a uma sobrecarga de sal <sup>48,49</sup>. A maior excreção urinária de sódio, observada na terceira semana de idade, em prole de ratas submetidas às dietas HR1 e HR2, refletiu o consumo, por parte da prole, da dieta ofertada às mães. A prole, durante os primeiros 15 dias de vida, alimenta-se exclusivamente de leite materno. Após este período, os filhotes apresentam abertura ocular e maior mobilidade dentro da gaiola, permitindo acesso à ração ofertada à sua mãe. A constatação visual, durante o acompanhamento das proles, confirmou o consumo da dieta materna pelos filhotes, ainda durante o período de lactação. A maior excreção urinária de NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> em prole de ratas submetidas à dieta HR2 e menor excreção em prole de ratas submetidas à dieta HO, também pode ser uma consequência do consumo de ração materna. Estudos mostram que o consumo de sal na dieta pode influenciar a ativação da via L-Arginina / NO <sup>50</sup>.

Esta via representa um dos mecanismos reguladores da pressão arterial <sup>50</sup>. A sua síntese aumentada em resposta a uma sobrecarga salina facilita a excreção renal de sódio permitindo a manutenção de valores normais de pressão arterial <sup>50</sup>. Seria possível conjecturar que uma modificação precoce desta via poderia estar envolvida no aparecimento de pressão arterial mais alta na vida adulta. No entanto, outros estudos são necessários para a confirmação destes resultados e a elucidação dos mecanismos responsáveis pelo aparecimento de maiores valores de pressão arterial na prole adulta.

## **6. CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que modificações do conteúdo de sal na dieta, durante a gestação e lactação, estão associadas a maior pressão arterial e resistência à insulina nas mães. Mais ainda, influenciam os processos que controlam o crescimento fetal e o metabolismo precoce de carboidratos e, mais tardiamente, representam um fator determinante no controle da pressão arterial, sensibilidade à insulina e perfil lipídico durante a vida adulta.

## **7. PERSPECTIVAS**

Inúmeros estudos realizados nas últimas décadas mostram uma associação entre certas características observadas durante a vida intra-uterina e a presença de doenças na vida adulta. Diversos estudos, tanto em humanos como em animais de experimentação, realizados em diferentes regiões do mundo e por pesquisadores independentes, confirmaram a associação entre baixo peso ao nascimento e o desenvolvimento tardio de patologias como hipertensão arterial sistêmica, doença coronariana, diabetes do tipo 2 e distúrbios do perfil lipídico.

O desafio que se apresenta para os próximos anos é a elucidação dos mecanismos celulares e moleculares responsáveis por esta associação, o que pode representar novas medidas preventivas para redução do impacto de determinadas doenças cardiovasculares e metabólicas de grande prevalência na vida adulta.

## 8. ANEXO

**Tabela 4.** Peso materno, do desmame ao término da gestação, em ratas submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

	<b>HO</b>	n	<b>NR</b>	n	<b>HR1</b>	n	<b>HR2</b>	n
3 <sup>a</sup> semana	41,7±2,3	8	42,5±2	8	40,7±2,9	8	42,5±6,4	8
4 <sup>a</sup> semana	80±6,2	8	81,7±6,1	8	77,7±4,3	8	81,2±8,5	8
5 <sup>a</sup> semana	114,3±8,4	8	115±8,6	8	112,5±8,4	8	116±11,5	8
6 <sup>a</sup> semana	142,5±8,6	8	138,5±14,4	8	136,3±17,9	8	132,5±18,4	8
7 <sup>a</sup> semana	166,3±7,5	8	163,8±13,7	8	169,3±9,4	8	168,8±20	8
8 <sup>a</sup> semana	194,3±8,5	8	192,5±12,5	8	192,5±13,2	8	196,3±13,7	8
9 <sup>a</sup> semana	216±6,1	8	213,3±9,2	8	215,3±4,7	8	210,5±13,2	8
10 <sup>a</sup> semana	232,5±5	8	234,4±7,5	8	241,3±9,4	8	228,8±4,7	8
11 <sup>a</sup> semana	254,5±7,1	8	252,5±8,6	8	257±11,2	8	250,3±10,5	8
12 <sup>a</sup> semana	273,8±2,5	8	277,5±2,8	8	284,5±6,1	8	273,8±10,3	8
13 <sup>a</sup> semana	293,5±5	8	305±9,1	8	312,5±2,8	8	301,3±10,3	8
14 <sup>a</sup> semana	322,5±5	8	328,8±4,7	8	333,8±4,7	8	333,8±4,7	8
15 <sup>a</sup> semana	286,3±4,7	8	283,8±9,4	8	301,3±4,7	8	300±5,7	8

Resultados em média ± desvio padrão da média

**Tabela 5.** PAc materna, da 11<sup>a</sup> até a 15<sup>a</sup> semana de vida (1<sup>a</sup> semana de lactação), em ratas submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

	<b>HO</b>	n	<b>NR</b>	n	<b>HR1</b>	n	<b>HR2</b>	n
11 <sup>a</sup> semana	112,5±8,4	8	124,3±11,5	8	130,1±8,1	8	141,7±9,6	8
12 <sup>a</sup> semana	98,3±9,2	8	120,3±10	8	126,2±7,3	8	138,6±9,4	8
13 <sup>a</sup> semana	92,6±9,2	8	110,1±9,2	8	121,6±7,2	8	135,4±9,9	8
14 <sup>a</sup> semana	85,8±11	8	103,1±8,6	8	116,5±6,2	8	131,4±9,5	8
15 <sup>a</sup> semana	92,4±9,5	8	103,3±6,5	8	117,3±6,2	8	132,6±8,4	8

Resultados em média ± desvio padrão da média

**Tabela 6.** Peso ao nascimento em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	4,92	6,12	6,34	6,06
2	4,83	6,7	6,86	6,23
3	5,06	6,84	7,18	6,22
4	4,87	6,45	6,23	6,49
5	5,66	6,6	6,52	6,42
6	5,58	7,0	6,8	6,77
7	5,55	6,9	6,25	6,32
8	5,48	6,7	6,45	6,12
<b>Média ± DP</b>	<b>5,28±0,3</b>	<b>6,68±0,3</b>	<b>6,58±0,3</b>	<b>6,33±0,2</b>



**Tabela 7.** Peso ao nascimento em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	4,26	6,51	6,54	5,52
2	4,56	6,69	6,23	5,87
3	4,7	6,15	6,78	6,15
4	4,68	5,69	5,85	5,81
5	4,33	6,88	6,73	6,83
6	4,45	6,74	6,98	6,65
7	4,58	6,81	5,67	6,43
8	4,66	6,67	5,84	6,14
<b>Média ± DP</b>	<b>4,53±0,2</b>	<b>6,51±0,4</b>	<b>6,32±0,5</b>	<b>6,17±0,4</b>

**Tabela 8.** Glicemia neonatal em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	54	52	87	66
2	48	58	85	88
3	50	57	78	69
4	52	64	85	81
5	70	63	80	65
6	65	60	76	82
7	54	56	73	91
8	62	52	72	85
9		71	63	69
10		75		64
11		71		
12		65		
13		64		
14		46		
15		54		
<b>Média ± DP</b>	<b>56,88±7,8</b>	<b>60,53±8</b>	<b>77,67±7,6</b>	<b>76±10,4</b>

**Tabela 9.** Glicemia neonatal em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	68	75	80	85
2	70	88	85	66
3	75	68	94	75
4	62	62	87	97
5	76	80	69	70
6	75	74	69	82
7	67	57	70	70
8	65	53	57	62
9		60	70	60
10		75	59	
11		77	67	
<b>Média ± DP</b>	<b>70,2±5,6</b>	<b>69,91±10,8</b>	<b>73,36±11,7</b>	<b>74,11±12</b>

**Tabela 10.** Peso do nascimento ao desmame em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

	<b>HO</b>	n	<b>NR</b>	n	<b>HR1</b>	n	<b>HR2</b>	n
3º dia	6,37±0,3	8	9,66±0,3	8	9,49±0,2	8	9,72±0,3	8
5º dia	8,31±0,5	8	10,96±0,9	8	10,91±0,7	8	11,16±0,9	8
8º dia	12,81±2,2	8	15,45±1,1	8	15,94±0,6	8	15,92±0,6	8
10º dia	17,76±0,8	8	19,4±1,6	8	19,77±1,1	8	19,75±1,1	8
12º dia	21,55±0,9	8	22,33±1,5	8	22,14±1,7	8	22±1,7	8
15º dia	27,13±1,1	8	26,1±1,4	8	27,83±2,1	8	27,7±2,2	8
17º dia	32,23±0,7	8	31,75±1,6	8	32,37±2,1	8	32,36±2	8
19º dia	36,89±1,3	8	38,21±0,9	8	40,79±2,3	8	40,92±2,3	8
21º dia	47,25±2,6	8	49,25±2,1	8	51,38±2,3	8	51,5±2	8

Resultados em média ± desvio padrão da média

**Tabela 11.** Peso do nascimento ao desmame em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

	<b>HO</b>	n	<b>NR</b>	n	<b>HR1</b>	n	<b>HR2</b>	n
3° dia	5,85±0,2	8	9,56±0,5	8	9,1±0,2	8	8,43±0,5	8
5° dia	7,3±0,6	8	10,97±0,8	8	11,07±0,9	8	10,84±0,7	8
8° dia	9,25±0,7	8	15,13±1,8	8	13,81±1,5	8	12,57±1	8
10° dia	15,57±1	8	19,18±1,2	8	19,35±0,9	8	18,83±1,2	8
12° dia	18,63±1,1	8	22±1.1	8	22,45±0,9	8	24,26±1,4	8
15° dia	22,37±1,8	8	25,54±1,4	8	26,26±0,9	8	27,51±1,7	8
17° dia	27,76±1,4	8	30,59±1,4	8	30,19±1,1	8	30,26±1,7	8
19° dia	34,4±1,2	8	33,63±1,6	8	34,75±0,6	8	34,5±1,7	8
21° dia	42,38±1,7	8	47,75±1,2	8	43,88±0,9	8	44,13±1,5	8

Resultados em média ± desvio padrão da média

**Tabela 12.** Peso do desmame até 12 semanas de vida em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

	<b>HO</b>	n	<b>NR</b>	n	<b>HR1</b>	n	<b>HR2</b>	n
3 <sup>a</sup> semana	45±10,5	12	53±7,2	12	55±6	12	48±3,7	12
4 <sup>a</sup> semana	77±14,7	12	87±8	12	94±11	12	94±4	12
5 <sup>a</sup> semana	121±9,3	12	137±6	12	144±8,3	12	132±9,3	12
6 <sup>a</sup> semana	150±6,8	12	185±11,6	12	182±17	12	184±16	12
7 <sup>a</sup> semana	177±6,5	12	226±22	12	232±16,5	12	232±17,4	12
8 <sup>a</sup> semana	227±5,6	12	262±27	12	271±16	12	269±19	12
9 <sup>a</sup> semana	266±14,3	12	293±28	12	306±17,6	12	303±20	12
10 <sup>a</sup> semana	299±21	12	329±25	12	335±19	12	331±18	12
11 <sup>a</sup> semana	337±22,4	12	359±22	12	355±24,8	12	367±20	12
12 <sup>a</sup> semana	375±32	12	390±16,5	12	378±30	12	401±23	12

Resultados em média ± desvio padrão da média

**Tabela 13.** Peso do desmame até 12 semanas de vida em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

	<b>HO</b>	n	<b>NR</b>	n	<b>HR1</b>	n	<b>HR2</b>	n
3 <sup>a</sup> semana	39±4,1	12	54±4,3	12	55±3,9	12	46±6,1	12
4 <sup>a</sup> semana	65±4,2	12	84±6,1	12	91±7	12	80±6,2	12
5 <sup>a</sup> semana	110±7,4	12	123±6,5	12	142±13,6	12	116±11,1	12
6 <sup>a</sup> semana	141±13,4	12	158±9,9	12	167±12,3	12	144±12,5	12
7 <sup>a</sup> semana	168±13,9	12	181±10	12	189±17,1	12	171±12,4	12
8 <sup>a</sup> semana	175±13,3	12	199±12,6	12	203±18,1	12	194±18,3	12
9 <sup>a</sup> semana	196±15,1	12	218±14,8	12	215±15,9	12	214±19,4	12
10 <sup>a</sup> semana	216±16,1	12	235±12,9	12	224±17	12	230±16,9	12
11 <sup>a</sup> semana	231±17,7	12	237±32,9	12	233±17,9	12	241±18,1	12
12 <sup>a</sup> semana	246±17,7	12	257±14,7	12	241±19,3	12	253±17	12

Resultados em média ± desvio padrão da média

**Tabela 14.** PAC, da 8<sup>a</sup> até a 12<sup>a</sup> semana de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

	<b>HO</b>	n	<b>NR</b>	n	<b>HR1</b>	n	<b>HR2</b>	n
8 <sup>a</sup> semana	92,8±8,5	8	105±6,5	8	118±5,8	8	123±8,6	8
9 <sup>a</sup> semana	108,5±6,9	8	119,4±5	8	128±7,5	8	134,7±9,5	8
10 <sup>a</sup> semana	120±7,5	8	132,5±7	8	139±7,3	8	143±11,8	8
11 <sup>a</sup> semana	122,5±7	8	137±6,5	8	146,3±8,3	8	148,6±8	8
12 <sup>a</sup> semana	113±7	8	132,5±4,6	8	143,8±5	8	146,4±8,5	8

Resultados em média ± desvio padrão da média



**Tabela 15.** PAc, da 8<sup>a</sup> até a 12<sup>a</sup> semana de vida, em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

	<b>HO</b>	n	<b>NR</b>	n	<b>HR1</b>	n	<b>HR2</b>	n
8 <sup>a</sup> semana	95,8±12,6	8	113±8,4	8	121,8±2,9	8	125±7,9	8
9 <sup>a</sup> semana	105±10,5	8	125,8±7,4	8	132,2±5,5	8	139±8,2	8
10 <sup>a</sup> semana	120±6,3	8	136,4±5,7	8	138±7,7	8	144±8,9	8
11 <sup>a</sup> semana	118,3±7,5	8	137,6±4,7	8	146,3±7,9	8	147±8,3	8
12 <sup>a</sup> semana	115±5,4	8	133,8±6,4	8	143,3±6	8	148±9	8

Resultados em média ± desvio padrão da média

**Tabela 16.** Peso corpóreo com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	430	420	400	430
2	430	430	440	450
3	450	450	450	385
4	460	420	460	450
5	450	410	380	415
6	420	450	420	460
<b>Média ± DP</b>	<b>440±15,4</b>	<b>430±16,7</b>	<b>425±30</b>	<b>431,7±28</b>

**Tabela 17.** Peso corpóreo com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	300	300	300	285
2	250	270	270	285
3	270	280	270	270
4	260	270	285	260
5	275	320	320	300
6	280	280	280	310
<b>Média ± DP</b>	<b>272±17</b>	<b>286±19</b>	<b>287,5±19</b>	<b>285±18</b>

**Tabela 18.** Freqüência cardíaca (bpm – batimentos por minuto) com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	335	345	340	320
2	325	400	350	335
3	330	335	345	340
4	330	340	330	350
5	400	345	350	350
6	450	355	400	400
<b>Média ± DP</b>	<b>361±51</b>	<b>353±23</b>	<b>352±24</b>	<b>349±27</b>

**Tabela 19.** Freqüência cardíaca (bpm – batimentos por minuto) com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	350	340	335	330
2	345	360	340	345
3	350	340	400	400
4	400	350	360	400
5	450	400	400	350
6	335	370	335	345
<b>Média ± DP</b>	<b>371±44</b>	<b>360±22</b>	<b>361±31</b>	<b>361±30</b>

**Tabela 20.** Pressão arterial direta (mmHg) com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	90	97	106	105
2	94	98	108	108
3	91	100	105	110
4	96	100	115	108
5	93	102	104	110
6	90	102	102	120
<b>Média ± DP</b>	<b>92,3±2,4</b>	<b>99,8±2</b>	<b>106,7±4,5</b>	<b>110,2±5,1</b>

**Tabela 21.** Pressão arterial direta (mmHg) com 12 semanas de vida (dia do CLAMP) em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	97	100	105	108
2	94	101	108	109
3	92	105	110	120
4	100	108	115	110
5	102	102	112	112
6	100	100	110	115
<b>Média ± DP</b>	<b>97,5±3,8</b>	<b>102,7±3,2</b>	<b>110±3,4</b>	<b>112,3±4,5</b>

**Tabela 22.** Consumo de glicose ( $\text{mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), avaliada através do CLAMP, com 12 semanas de vida, em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	3,5	7,9	11,6	16,8
2	4,6	7,7	12,1	11,8
3	4,4	11,8	19,3	14,8
4	2,9	11,1	14,8	22,4
5	3,7	16,2	12,8	12,1
6	2,8	9,8	17,7	20,9
<b>Média ± DP</b>	<b>3,6±0,7</b>	<b>10,7±3,1</b>	<b>14,7±3,1</b>	<b>16,5±4,4</b>



**Tabela 23.** Consumo de glicose ( $\text{mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), avaliada através do CLAMP, com 12 semanas de vida, em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	8,3	6,6	8,8	9
2	10,6	12,3	12,3	16,3
3	5,4	10,2	11,1	13,3
4	13,8	9,8	9,5	16,6
5	8,9	11,3	13,3	10,8
6	7,3	8,9	17	11,2
<b>Média <math>\pm</math> DP</b>	<b>9<math>\pm</math>2,9</b>	<b>9,8<math>\pm</math>1,9</b>	<b>12<math>\pm</math>2,9</b>	<b>12,8<math>\pm</math>3,1</b>

**Tabela 24.** Colesterol plasmático (mg/dL) com 12 semanas de vida em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	90,8	69,7	74,8	53,2
2	88,6	78,6	87	60,8
3	124	58,6	68,6	58,1
4	102,7	65,6	103,7	69,7
5	95,1	63,2	78,6	67,6
6	118,3	49,7	86,4	63
7	95,6	77	73,5	71,4
8	69,5	78,9	82	66
9		60,5		58,7
10		68,9		57,9
11		77		52,8
12				69,2
<b>Média ± DP</b>	<b>98,1±17,2</b>	<b>68±9,5</b>	<b>81,8±10,9</b>	<b>62,4±6,4</b>

**Tabela 25.** Colesterol plasmático (mg/dL) com 12 semanas de vida em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	95,9	108	77,8	77,5
2	112,7	84,6	82,7	71,6
3	40,2	72,1	81	74,6
4	58,6	64,6	81,3	82,1
5	81	54,6	87,8	91,9
6	80,3	71,9	72,9	78,1
7	83,8	62,7	87,8	89,4
8	58,5	61	84	81,6
9	94,6	64,8	70	
10	88,9	72,1	92,4	
11	59,8	82,7	92,7	
12	99,7	62,1	91,9	
13	54,9	59,7	50,4	
<b>Média ± DP</b>	<b>77,6±21,3</b>	<b>70,8±14,2</b>	<b>81±11,6</b>	<b>80,9±6,9</b>

**Tabela 26.** Triacilgliceróis plasmáticos (mg/dL) com 12 semanas de vida em prole masculina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	84,1	48,6	50,4	48,6
2	85,1	56,5	54,6	67,7
3	88,6	74,7	64,5	68,3
4	100,1	39	52,8	57
5	86	80,3	52,8	25,7
6	70,6	44,8	53,7	38,1
7	78,8	37,8	42,5	62,8
8	66,5	60,2	23,8	30,4
9		81,7		31,4
10		24,3		40,7
11		70		41,7
12				51
<b>Média ± DP</b>	<b>82,5±10,5</b>	<b>56,2±19</b>	<b>49,4±11,9</b>	<b>46,9±14,6</b>

**Tabela 27.** Triacilgliceróis plasmáticos (mg/dL) com 12 semanas de vida em prole feminina, cujas mães foram submetidas às dietas HO, NR, HR1 e HR2.

<b>RATOS</b>	<b>HO</b>	<b>NR</b>	<b>HR1</b>	<b>HR2</b>
1	48,1	98,6	82,2	53,7
2	112,7	82,7	98,6	51,8
3	44,8	81,7	91,6	65,8
4	35,5	56	57	90,2
5	81,4	44,4	78,6	74,2
6	80,9	63,5	77,1	82,4
7	117	44,4	78,5	80,4
8	67,5	53,7	41,1	58,2
9	72,1	65	49,5	
10	45,3	66,8	79,3	
11	100	104,7	78,4	
12	99,4	63	67,8	
13	62,8	73,3	70,8	
<b>Média ± DP</b>	<b>74,4±27</b>	<b>69±18,7</b>	<b>73,1±16</b>	<b>69,6±14,3</b>

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. Barker, D. J. P.; Osmond C. **Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet.**, v. 1, p. 1077-81, 1986.
2. Barker, D. J. P. **Maternal nutrition and cardiovascular disease. Nutr. Health**, v. 9, p. 99-106, 1993.
3. Barker, D. J. P. **The fetal origins of hypertension. J. Hypertens.**, v. 14, supplement 5, p. S117-20.
4. Paneth, N.; Ahmed F.; Stein, A. D. **Early nutritional origins of hypertension: a hypothesis still lacking support. J. Hypertens.**, v. 14, supplement 5, p. S121-29.
5. Leon, D. A.; Lithell, H. O.; Vagerö D.; Koupilova, I.; Mohsen, R.; Berglund, L.; Lithell, U.; McKeigue, M. **Reduced fetal growth rate and increased risk of death from ischaemic heart disease: cohort study of 15 000 Swedish men and women born 1915-29. BMJ**, v. 317, p. 241-45, 1998.
6. Stein, C. E.; Fall, C. H.; Kumaran, K.; Osmond, C.; Cox, V.; Barker, D. J. P. **Fetal growth and coronary artery disease in South India. Lancet**, v. 348, p. 1269-73, 1996.
7. Rich-Edwards, J. W.; Stampfer, M. J.; Mason, J.E.; Rosner, B.; Hankinson, S. E.; Colditz, G. A.; Hennekens, C. H.; Willet, W. C. **Birth weight and risk of cardiovascular disease in a cohort of women followed up since 1976. BMJ**, v.315, p. 396-400, 1997.

8. Law, C. M.; Shiell, A. W. **Is blood pressure inversely related to birth weight? The strenght of evidence from a systematic review of the literature. J. Hypertens.**, v. 14, p. 935-41, 1996.
9. Law, C. M. **Fetal influences on adult hypertension. J. Hum. Hypertens.**, v. 9, p. 649-51, 1995.
10. Law, C. M.; Barker, D. J. P. **Fetal influences on blood pressure. J. Hypertens.**, v. 12, p. 1329-32, 1994.
11. Persson, E.; Janson, T. **Low birth weight is associated with elevated adult blood pressure in the chronically catheterized guinea-pig. Acta Physiol. Scand.**, v. 115, p. 195-6, 1992.
12. Langley, S. C.; Jackson, A. A. **Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diet. Clin. Sci.**, v. 86, p. 217-22, 1994.
13. Roseboom, T. J.; Van der Meulen, J. H.; Osmond, C.; Barker, D. J. P.; Ravelli, A. C.; Bleker, O. P. **Adult survival after prenatal exposure to the Dutch famine 1944-45. Paediatr. Perinat. Epidemiol.**, v. 15, p. 220-25, 2001.
14. Roseboom, T. J.; Van der Meulen, J. H.; Osmond, C.; Barker, D. J. P.; Ravelli, A. C.; Bleker, O. P. **Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. Molec. Cell. Endocrimol.**, v. 185, p. 93-8, 2001.
15. Roseboom, T. J.; Van der Meulen, J. H.; Ravelli, A. C.; Van Montfrans, G. A.; Osmond, C.; Barker, D. J. P.; Bleker, O. P. **Blood pressure in adults after prenatal exposure to famine. J. Hypertens.**, v. 17, p. 325-30, 1999.

16. Benediktsson, R.; Lindsay, R.S.; Noble, J.; Seckl, J. R.; Edwards, C. R. W. **Glucocorticoids exposure in utero: new model of adult hypertension. Lancet**, v. 341, p. 339-41, 1993.
17. Langley-Evans, S. C. **Intrauterine programming of hypertension by glucocorticoids. Life Sci.**, v. 60, p. 1213-21, 1997.
18. Gardner, D.S.; Jackson, A. A.; Langley, S. C. **Maintenance of maternal diet-induced hypertension is dependent on glucocorticoids. Hypertension.** v. 30, p. 1525-30, 1997.
19. Green, L. R. **Programming of endocrine mechanisms of cardiovascular control and growth. J. Soc. Gynecol. Invest.**, v. 8, p. 57-68, 2001.
20. Kimura, G. **Sodium sensitivity of blood pressure: a new prognostic factor in hypertension. Nephron**, v. 83, p. 97-105, 1999.
21. Law, M. R.; Frost, C. D.; Wald, N. J. **By how much dietary salt reduction lower blood pressure?. BMJ**, v. 302, p. 811-5, 1991.
22. He, J.; Ogden, L. G.; Vupputuri, S.; Bazzano, L. A.; Lria, C.; Whelton, P. K. **Dietary sodium intake and subsequent risk of cardiovascular disease in overweight adults. JAMA**, v. 282, p. 2027-34, 1999.
23. Hazon, N.; Parker, C.; Leonard, R.; Henderson, I.W. **Influence of an enriched dietary sodium chloride regime during gestation and suckling and post-natally on the ontogeny of hypertension in the rat. J. Hypertens**, v. 6, p. 517-24, 1988.
24. Dene, H.; Rapp, J. P. **Lack of effects of maternal salt intake on blood pressure of offspring in Dahl, salt-sensitive rats. Clin. and Experim. Hypertens.**, v. 7, p. 1121-1133, 1985.



25. Silva, A. A.; Noronha, I. L.; Oliveira, J. B.; Malheiros, D. M. C.; Heimann, J. C.  
**Renin-angiotensin system function in adult rats after perinatal salt overload.**  
*Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, v. 13, p. 133-39, 2003.
26. Prada, P.; Okamoto, M. M.; Furukawa, L. N.; Machado, U. F.; Heimann, J. C.;  
Dolnikoff, M. S. **High- or low-salt diet from weaning to adulthood: effect on  
insulin sensitivity in Wistar rats.** *Hypertension*, v. 35, p. 424-29, 2000.
27. Schimdt, H. H. H. W.; Kelm, M. **Determination of nitrite and nitrate by the  
Griess reaction.** In: Feelish, M.; Stamler, J. S., ed. **Methods in nitric oxide  
research**, England, Wiley, 1996. p. 491-7.
28. Gilliam, M. B.; Sherman, M. P.; Griscavage, J. M.; Ignarro, L. A  
**spectrophotometric assay for nitrate using NADPH oxidation by .Aspergillus  
nitrate reductase.** *Anal. Biochem.*, v. 212, p. 359-65, 1993.
29. Veening, M. A.; Van Weissenbruch, M.; Delemare-Van de Wall, H. A. **Glucose  
tolerance, insulin sensitivity, and insulin secretion in children born small for  
gestational age.** *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 87, p. 4657-61, 2002.
30. Silverman, B. L.; Metzger, B. E.; Cho, N. H.; Loeb, C. A. **Impaired glucose  
tolerance in adolescent offspring of diabetic mothers: relationship to fetal  
hyperinsulinism.** *Diabet. Care*, v. 18, p. 611-17, 1995.
31. Forsén, M. D.; Eriksson, J.; Tuomilehto, J.; Reunanen, A.; Osmond, C.;  
Barker, D. **The fetal and childhood growth of persons who develop type 2  
diabetes.** *Ann. Intern. Med.*, v. 133, p. 176-82, 2000.
32. Vickers, H. M.; Reddy, S.; Ikenasio, B. A.; Breier, B. H. **Dysregulation of the  
adipoinular axis – a mechanism for the pathogenesis of hyperleptinemia**

- and adipogenic diabetes induced by fetal programming. J. Endocrinol.**, v. 170, p. 323-32, 2001.
33. Jaquet, D.; Garboriau, A.; Czernichow, P.; Levy-Marchal, C. **Insulin resistance early in adulthood in subjects born with intrauterine growth restriction. J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 85, p. 1401-06, 2000.
34. Jensen, C. B.; Storgaard, H.; Dela, F.; Hoslt, J. J.; Madsbad, S.; Vaag, A. A. **Early differential defects of insulin secretion and action in 19-year-old caucasian men who had low birth weight. Diabetes**, v. 51, p. 1271-80, 2002.
35. Bertin, E.; Gangnerau, M.; Bailbé, D.; Portha, B. **Glucose metabolism and b-cell mass in adult offspring of rats protein and/or energy restricted during the last week of pregnancy. Am. J. Physiol.**, v. 277, p. E11-17, 1999.
36. Simmons, D.; Thompson, C. F.; Conroy, C. **Incidence and risk factors for neonatal hypoglycemia among women with gestational diabetes mellitus in South Auckland. Diabet. Med.**, v. 17, p. 830-34, 2000.
37. Ktorza, N. N.; Girard, J. R.; Picon, L. **Effects of gestational hyperglycemia on glucose metabolism and its hormonal control in the fasted, newborn rat during the early postnatal period. Diabetes**, v. 34, p. 995-1001, 1985.
38. Holness, M. J.; Langdown, M. L.; Sugden, M. C. **Early-life programming of susceptibility to dysregulation of glucose metabolism and the development of Type 2 diabetes mellitus. Biochem. J.**, v. 349, p. 657-65, 2000.
39. Weels, J. C. K. **The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother ? J. theor. Biol.**, v. 221, p. 143-61, 2003.

40. Susa, J. B.; Boylan, J. M.; Sehgal, P.; Schwartz, R. **Impaired insulin secretion after intravenous glucose in neonatal Rhesus monkeys that had been chronically hyperinsulinemic in utero.** *P.S.E.B.M.*, v. 199, p. 327-31, 1992
41. Roy-Clavel, E. M.; Picard, S. B.; St-Louis, J.; Brochu, M. **Induction of intrauterine growth restriction with a low-sodium diet fed to pregnant rats.** *Americ. J. Obstet. Gynecol.*, v. 180, p. 608-13, 1999.
42. Hales, C. N.; Ozanne, S. E. **The dangerous road of catch-up growth.** *J. Physiol.*, v. 547.1, p. 5-10, 2003.
43. Jennings, B. J.; Ozanne, S. E.; Dorling, M. W.; Hales, C. N. **Early growth determines longevity in male rats and may be related to telomere shortening in the kidney.** *FEBS Letters*, v. 448, p. 4-8, 1999.
44. Aviv, A.; Aviv, H. **Reflections on telomeres, growth, aging, and essential hypertension.** *Hypertension*, v. 29, p. 1067-72, 1997.
45. Moro, E.; Gallina, P.; Pais, M.; Cazzolato, G.; Alessandrini, P.; Bittolo-Bon, G. **Hypertriglyceridemia is associated with increased insulin resistance in subjects with normal glucose tolerance: evaluation in a large cohort of subjects assessed with the 1999 World Health Organization criteria for the classification of diabetes.** *Metabolism*, v. 52, p. 616-19, 2003..
46. Livingstone, C.; Collison, M. **Sex steroids and insulin resistance.** *Clin. Sci.*, v. 102, p. 151-66, 2002.
47. Sugden, M. C.; Holness, M. J. **Gender-specific programming of insulin secretion and action.** *J. Endocrinol.*, v. 175, p. 757-67, 2002.

48. Contreras, R. J.; Wong, D. L.; Henderson, R.; Curtis, K. S.; Smith, J. C. **High dietary NaCl early in development enhances mean arterial pressure of adult rats. *Physiol. Behav.*, v. 71, p. 173-81, 2000.**
49. Argüelles, J.; Brime, J. I.; López-Sela, P.; Perillán, C.; Vijande, M. **Adult offspring long-term effects of high salt and water intake during pregnancy. *Hormon. Behav.*, v. 37, p. 156-62, 2000.**
50. Shultz, P. J.; Tolins, J. P. **Adaptations to increased dietary salt intake in the rat. Role of endogenous nitric oxide. *J. Clin. Invest.*, v. 91, p. 642-50, 1993.**