



ISABELA QUEIROZ PERÍGOLO LOPES

**EFEITO DO ÓLEO DE PEIXE NA MODULAÇÃO DE
MARCADORES METABÓLICOS EM MODELO DE
HIPERALIMENTAÇÃO PÓS-NATAL**

**LAVRAS – MG
2019**

ISABELA QUEIROZ PERÍGOLO LOPES

**EFEITO DO ÓLEO DE PEIXE NA MODULAÇÃO DE MARCADORES
METABÓLICOS EM MODELO DE HIPERALIMENTAÇÃO PÓS-NATAL**

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

Profa. Dra. Laura Cristina Jardim Pôrto Pimenta
Orientador

Prof. Dr. Rodrigo Ferreira de Moura
Coorientador

**LAVRAS - MG
2019**

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

Lopes, Isabela Queiroz Perígolo.

Efeito do óleo de peixe na modulação de marcadores
metabólicos em modelo de hiperalimentação pós-natal / Isabela
Queiroz Perígolo Lopes. - 2019.

60 p. : il.

Orientador(a): Laura Cristina Jardim Pôrto Pimenta.

Coorientador(a): Rodrigo Ferreira de Moura.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Ácidos Graxos. 2. Sobrepeso. 3. Hipernutrição. I. Pimenta,
Laura Cristina Jardim Pôrto. II. Moura, Rodrigo Ferreira de. III.
Título.

ISABELA QUEIROZ PERÍGOLO LOPES

**EFEITO DO ÓLEO DE PEIXE NA MODULAÇÃO DE MARCADORES
METABÓLICOS EM MODELO DE HIPERALIMENTAÇÃO PÓS-NATAL**

**EFFECT OF FISH OIL IN THE MODULATION OF METABOLIC MARKERS IN
POSTNATAL OVERFEEDING MODEL**

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

APROVADA em 21 de agosto de 2019.

Dra. Laura Cristina Jardim Pôrto Pimenta UFLA

Dra. Lílian Gonçalves Teixeira UFLA

Dra. Helen Hermana Miranda Hermsdorff UFV

Profa. Dra. Laura Cristina Jardim Pôrto Pimenta
Orientadora

Prof. Dr. Rodrigo Ferreira de Moura
Coorientador

**LAVRAS – MG
2019**

AGRADECIMENTOS

Início agradecendo a Deus pela vida, força e sabedoria nesta caminhada;

Às minhas mães Késsia e Lana e meus pais Cláudio e Nilo, por acreditarem no meu potencial, estar sempre ao meu lado e literalmente, financiarem meus sonhos;

Às minhas tias Sue e Polly, uma de perto me acolhendo nos fins de semana e me acalmando quanto às preocupações e outra de longe, mas sempre torcendo e orando por mim;

À Vitória por todo apoio, carinho, companheirismo, cuidado e por deixar a vida mais leve e divertida;

As amigas Marina e Iolanda, que mesmo à distância sempre presentes, ouvintes, positivas e agora posso afirmar com vocês “deu certo!”;

À minha orientadora Laura pela confiança, paciência, orientação e por me encorajar a cada dia a acreditar no meu potencial;

As professoras Isabela e Lílian e meu coorientador Rodrigo por fornecer não só material para a pesquisa, mas também a atenção, o conhecimento e o tempo de vocês sanando nossas dúvidas (quase diariamente), a professora Andrezza pelas contribuições e colaboração com o inglês;

À Brenda, que chegou com sua experiência para somar ao projeto e se tornou mais que uma companheira de trabalho, uma amiga;

Aos alunos de iniciação científica Tayná, Felipe, Matheus, Ana Paula e Lylian, que tanto me ajudaram, especialmente com o cuidado dos animais e pela amizade construída e ao técnico Geraldo por toda ajuda e suporte nas atividades do laboratório.

A todos minha eterna gratidão, vocês foram essenciais e fizeram toda a diferença nessa jornada!

RESUMO

A obesidade é um problema de saúde pública mundial. A alimentação durante a vida intrauterina e/ou período pós-natal podem contribuir para o desenvolvimento da obesidade durante a vida adulta. O óleo de peixe, fonte de ácido graxo poli-insaturado da série ω -3, surge como uma opção viável de tratamento coadjuvante para atenuar as alterações metabólicas associadas a essa enfermidade. O presente trabalho teve como objetivo investigar o efeito do óleo de peixe sobre a modulação de marcadores metabólicos em modelo de hiperalimentação pós-natal. A hiperalimentação neonatal foi induzida pela redução do tamanho da ninhada. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: Controle (C); Hiperalimentação pós-natal (PO); Hiperalimentação pós-natal + suplementação com óleo de peixe (POFO). O óleo de peixe foi administrado às mães (1g/kg por gavagem) durante as fases de acasalamento, gestação e amamentação, uma vez ao dia. Os filhotes machos foram monitorados até os 120 dias de vida. O TTOG foi realizado aos 70 e 120 dias de vida dos animais. O ganho de peso e a ingestão alimentar foram monitorados semanalmente. No final do experimento, sangue, fígado e tecido adiposo foram coletados. Os parâmetros bioquímicos foram avaliados usando kits comerciais. As adipocinas séricas, assim como as citocinas no tecido adiposo, foram dosadas por ELISA. O conteúdo total de lipídios hepáticos foi extraído pela técnica de Folch e os níveis de colesterol e triglicérides foram determinados por kit comercial. Marcadores de estresse oxidativo (TBARS e concentração de hidroperóxidos) e enzimas antioxidantes (SOD e CAT) foram determinados por método colorimétrico. As análises estatísticas foram realizadas no GraphPad Prism®. De acordo com os resultados, a suplementação com óleo de peixe preveniu o ganho de peso aos 21 dias de idade, preveniu a intolerância à glicose na fase adulta e o aumento da glicemia de jejum, colesterol total e LDL-c, além de aumentar a fração HDL-c nos animais adultos. A suplementação com óleo de peixe também foi eficaz em prevenir o aumento dos níveis séricos de leptina e resistina e reduzir a concentração de quemerina sérica, além de prevenir o aumento de alguns marcadores hepáticos de peroxidação lipídica, associada a um aumento na atividade da enzima antioxidante catalase. Desta forma, os resultados sugerem que a suplementação materna com óleo de peixe previne as alterações metabólicas decorrentes da hiperalimentação pós-natal.

Palavras chave: Ácidos Graxos. Sobrepeso. Hiperalimentação.

ABSTRACT

Obesity is a major public health problem in the world. Dietary changes during intrauterine life and/or postnatal period may contribute to the development of obesity during adulthood. Fish oil appears as a coadjuvant treatment to attenuate metabolic disorders, being composed of ω -3 polyunsaturated fatty acids. Therefore, this paper aimed to investigate the effect of fish oil on the modulation of metabolic markers in postnatal overfeeding model. The neonatal overfeeding was induced by reducing litter size. The animals were shared into four experimental groups: Control (C); Postnatal overfeeding (PO); Postnatal overfeeding + Fish Oil supplementation (POFO). Fish oil was given to the mothers (1g/kg per gavage technique) during the mating, gestation and breastfeeding phases, once a day. The male offspring were monitored to 120 days of age. The OGTT was performed at 70 and 120 days of life of the animals. Weight gain and food intake were monitored weekly. At the end of the experiment, blood, liver and adipose tissue were collected. Biochemical parameters were evaluated using commercial kits. Serum adipokines as well as cytokines in adipose tissue were measured by ELISA. Total hepatic lipids content was extracted by Folch technique, and cholesterol and triglycerides was determined by commercial kit. Stress oxidative markers (TBARS and hydroperoxide concentration) and antioxidant enzymes (SOD and CAT) were measured by colorimetric method. Statistical analyzes were performed on GraphPad Prism®. According to our results, fish oil supplementation prevented weight gain at 21 days of age, improved glucose tolerance, reduced fasting glucose, total cholesterol and LDL-c, and increased the HDL-c fraction in adulthood. Supplementation with fish oil also restored serum levels of leptin and resistin, and decreased serum chemerin, and reduced these same markers of lipid peroxidation, associated with an increased in catalase activity. In this way, the results suggest that maternal supplementation with fish oil has a attenuating effect on metabolic alterations in overfeed offspring in adulthood.

Keywords: Fatty acids. Overweight. Overnutrition.

LISTA DE FIGURAS

Figure 1 - Experimental design.....	43
Figure 2 - Glycemic curve (mmol/L) vs. time (min) from the oral glucose tolerance test (OGTT) and AUC obtained with the TTOG performed at 70 (A) and 120 (B) days of life of the animals	46
Figure 3 - Leptin (A), resistin (B), chemerin (C) and adiponectin (D) evaluated in the serum of the animals.....	47
Figure 4 - TNF- α (A) and IL-10 (B) evaluated in epididymal adipose tissue of the animals.....	48
Figure 5 – Stress oxidative in liver. Determination of TBARS according to the concentration MDA (A), dosage of hydroperoxides according to the concentration of hydroperoxides (B) and activity of antioxidant enzymes SOD (C) and CAT (D) in the liver, normalized by protein concentration in the liver of the animals.....	48

LISTA DE TABELAS

Table 1 – Body weight (g), feed intake (g) and organ weights of experimental groups.....	43
Table 2 – Blood serum biochemistry and hepatic lipids of experimental groups.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS

AG	Ácidos graxos
AGE	Produtos avançados de glicação
AGL	Ácidos graxos livres
AGPI	Ácidos graxos poli-insaturados
ALA	Ácido alfa-linolênico
AMP	Adenosina monofosfato
Apo	Apoproteína
C	Grupo experimental controle
CFO	Grupo experimental controle suplementado com óleo de peixe
Co-A	Coenzima A
CRP	Proteína C reativa
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DHA	Ácido docosaenoico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	“Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay”
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
EROS	Espécies reativas de oxigênio
FATP-1	Proteína transportadora de ácidos graxos 1
g	Gramas
GLUT4	Transportador de glicose tipo 4
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDLc	Colesterol em HDL
HSL	Hormônio lípase sensível
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IMC	Índice de massa corporal
Kcal	Quilocalorias
LDL	Lipoproteína de densidade baixa
LDLc	Colesterol em LDL
LPL	Lipase lipoproteica
LXR	Receptor hepático X

LISTA DE ABREVIATURAS (continuação)

mg	Miligrama
mg/dL	Miligrama por decilitro
mg/kg	Miligramas por quilograma de peso
mL	Mililitros
mmol/L	Milimol por litro
Mm	Mili molar
MDA	Malondialdeído
mRNA	Ácido ribonucléico mensageiro
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NFκB	Fator nuclear kapa B
O ₂ ⁻	Ânion superóxido
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio 1
PKC	Proteína quinase C
PO	Grupo experimental hiperalimentado
POFO	Grupo experimental hiperalimentado suplementado com óleo de peixe
PPAR α	Receptores ativados por proliferadores de peroxissomos α
PPAR γ	Receptores ativados por proliferadores de peroxissomos γ
PTN	Proteína
RNA	Ácido ribonucléico
SCD1	Ácido graxo desaturase 1
SOD	Superóxido dismutase
SREBP-1	Proteína ligadora do elemento de regulação do esterol
TA	Tecido adiposo
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicerídeos
TGF- β	Fator de transformação e crescimento beta
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
TTOG	Teste de tolerância oral à glicose
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

LISTA DE SÍMBOLOS

ω	Ômega
μg	Micrograma
μL	Microlitro
μm	Micrômetro
$\mu\text{g/mL}$	Micrograma por mililitro
$\mu\text{mol/g}$	Micromol por grama
$\mu\text{mol/L}$	Micromol por litro
μM	Micromolar
$^{\circ}\text{C}$	Grau centígrado
Δ	Varição
$\Delta \text{ E/min/mg}$	Varição de energia por minuto por miligrama de proteína

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE.....	14
1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1	Obesidade	16
2.1.1	Obesidade: dados epidemiológicos e fatores determinantes	16
2.1.2	Obesidade e desordens imunometabólicas	17
2.1.3	Obesidade e estresse oxidativo	19
2.2	Programação metabólica.....	20
2.3	Ácidos graxos ω -3	22
2.3.1	Efeitos imunometabólicos da suplementação com ω -3.....	23
2.3.2	Suplementação materna com ω -3	25
2.4	Modelos animais para indução de obesidade	26
3	CONCLUSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS	28
	SEGUNDA PARTE	37
	Abstract.....	39
	Introduction	40
	Material and methods	41
	Animals.....	41
	Experimental design	42
	Oral glucose tolerance test.....	44
	Determination of metabolic markers	44
	Enzyme-linked immunosorbent assay in adipose tissue.....	44
	Determination of hepatic lipids	45
	Oxidative stress in the liver	45
	Statistical analysis	45
	Results.....	46
	Discussion.....	51
	Conclusion	55
	Acknowledgments	55
	References	55
	ANEXO A	60

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A obesidade se tornou um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. A projeção é que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos do mundo estejam com sobrepeso, e que existam mais de 700 milhões obesos. Atualmente, no cenário brasileiro, quase 60% da população se encontra acima do peso, na faixa de sobrepeso e obesidade, e a projeção para os próximos anos é que tal prevalência aumente. Além de ser um problema de saúde pública, a obesidade também afeta a economia do país, ocasionando maiores gastos ao serviço público de saúde, como despesas médicas (aumento de 36 a 100% com fármacos) absenteísmo e queda de produtividade no trabalho, e o aumento de gastos com seguros (desemprego e invalidez).

A obesidade, doença crônica de etiologia multifatorial é caracterizada pelo excesso de gordura corporal e um estado de inflamação crônica de baixo grau. Dentre os principais fatores desencadeantes da obesidade, a predisposição genética e o ambiente em que o indivíduo encontra-se inserido exercem maior influência na etiopatogenia da doença. O ambiente obesogênico, característico do estilo de vida da sociedade do século XXI, é aquele onde há um maior consumo de alimentos industrializados, ultraprocessados, ricos em sódio e açúcares simples e uma baixa ingestão de alimentos fonte de vitaminas, minerais e fibras, aliado a um decréscimo progressivo da atividade física.

A nutrição adequada é de suma importância desde o período neonatal, uma vez que nos primeiros anos de vida, o indivíduo está exposto à programação metabólica, sendo capaz de modular o risco futuro de obesidade e outras doenças crônicas. Os efeitos desta programação metabólica são transgeracionais e têm sido explicados através de modificações ao nível da maquinaria epigenética. As alterações epigenéticas consistem em modificações químicas do DNA que não remodelam a sequência nucleotídica, mas que alteram a probabilidade da transcrição dos genes. Assim sendo, a nutrição intrauterina e pós-natal precoce têm sido relacionadas ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta, entre elas a obesidade.

Com a alta prevalência de obesidade em nível mundial e a sua íntima relação com a etiopatogenia de outras doenças crônicas, como as dislipidemias, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e cânceres, há uma busca incessante por estratégias para a

prevenção e/ou controle dessa enfermidade, em que se destaca o potencial uso do óleo de peixe. O óleo de peixe é composto por ácidos graxos essenciais, poliinsaturados, da classe ômega (ω)-3, principalmente por ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA). Dentre os benefícios do óleo de peixe, demonstrados em modelos animais e em humanos, encontram-se a redução do acúmulo de gordura visceral, modulação no perfil de ácidos graxos e metabolismo glicídico. Essas modulações metabólicas têm sido relacionadas a fenômenos epigenéticos e modulação na expressão de adipocinas.

Considerando o potencial do óleo de peixe em atenuar alterações metabólicas e inflamatórias típicas da obesidade, do óleo de peixe, estudos populacionais, clínicos e experimentais têm sido realizados com vistas a elucidar os mecanismos moleculares envolvidos na modulação metabólica exercida pelos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI).

Além dos modelos experimentais clássicos, que buscam mimetizar os efeitos da obesidade em humanos utilizando a dieta como potencial indutor de obesidade, têm-se explorado o modelo de hiperalimentação pós-natal. Esse modelo de restrição de ninhadas consiste na redução do número de filhotes por fêmea durante o período de amamentação, o que diminui a competição e aumenta a disponibilidade de alimento para os filhotes. Ninhadas reduzidas são um modelo eficaz de hiperalimentação pós-natal, uma vez que induzem o ganho de peso, resultado da imaturidade do mecanismo de controle da ingestão alimentar no período neonatal.

Nesse contexto, uma investigação minuciosa sobre os mecanismos moleculares envolvidos na modulação metabólica exercida pelo óleo de peixe, como uma das estratégias de controle da obesidade e doenças associadas, assume grande relevância. Sendo assim, o objetivo do presente estudo consiste em analisar o efeito da suplementação materna (do acasalamento ao desmame) com óleo de peixe na modulação de marcadores metabólicos em modelo de hiperalimentação pós-natal em camundongos C57Bl6 machos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade

2.1.1 Obesidade: dados epidemiológicos e fatores determinantes

A obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, sendo definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dano multifatorial resultante de um balanço energético positivo, que favorece o acúmulo de gordura corporal (OMS, 2018). Nas últimas três décadas, o número de pessoas com sobrepeso ou obesidade quase triplicou em nível global. Neste contexto, morrem pelo menos 2,8 milhões de pessoas a cada ano em consequência do excesso de peso ou obesidade (ABESO, 2015). A projeção é que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso, e mais de 700 milhões com obesidade. Em nível global, caso nenhuma ação seja tomada no âmbito da saúde pública, o número de crianças com sobrepeso e obesidade poderá chegar a 75 milhões (OMS, 2018).

No Brasil, a obesidade vem crescendo em um ritmo acelerado. Em 2016, um levantamento da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para as Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), ligada ao Ministério da Saúde, apontou que quase 60% da população apresentava excesso de peso de acordo com a classificação do Índice de Massa Corporal (IMC). Os dados anunciados traduzem a urgência de se pensar em políticas públicas de emergência (BRASIL, 2017; OMS 2018). Nos últimos cinquenta anos, a população brasileira foi marcada por diversas mudanças no estilo de vida, condições socioeconômicas e demográficas, fato que explica o fenômeno de transição nutricional (SOUZA, 2010). No passado a população brasileira era acometida com maior frequência por infecções e desnutrição, associadas à extrema pobreza e carência de saneamento básico. Atualmente, as causas de morbimortalidade se devem, em grande número, pela obesidade e as doenças associadas a esta, como doenças cardiovasculares, dislipidemias, diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólica e alguns tipos de cânceres, o que é decorrente da mudança no perfil alimentar da população. (MONTEIRO; LEVY; CAMPOS, 2015).

Dentre estas mudanças, as alterações na qualidade e na quantidade da alimentação, concomitantes ao crescimento do sedentarismo, levaram ao aumento considerável da prevalência de sobrepeso e obesidade e, conseqüentemente, das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). O aumento do IMC está diretamente relacionado à intolerância à

glicose, às dislipidemias, hipertensão, diabetes tipo 2, insuficiência renal e osteoartrite. Como exposto por Martin-Rodriguez et al. (2015), todos os graus de obesidade se associam as patologias como asma, insuficiência cardíaca e transtornos mentais graves, entretanto, a obesidade grau 2 e a obesidade mórbida, se associam também à doença pulmonar obstrutiva crônica e à depressão.

O acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo leva ao aumento na secreção de adipocinas e citocinas, como a leptina, resistina, fator de necrose tumoral e interleucina-6, contribuindo para o aumento da resistência à insulina. Esta atua como um fator de risco para o surgimento de diversas doenças, como o diabetes tipo 2, hipertensão arterial, dislipidemias, que se associam ao quadro de síndrome metabólica (DOMMERMUTH; EWING, 2018).

Quando se busca uma explicação para a epidemia global de obesidade, os esforços devem focar na identificação de fatores ambientais envolvidos. O ambiente obesogênico predominante nos países ocidentais ou com hábitos de vida ocidentalizados é caracterizado pela oferta ilimitada de alimentos de baixo custo, palatáveis, práticos e de alta concentração energética, aliado à redução na prática de atividade física. Conforme a tendência de piora progressiva de todos estes fatores ambientais, o prognóstico atualmente mais aceito é de elevação nas taxas de prevalência da obesidade nas diversas faixas etárias da maioria das populações do planeta (VO; ALBRECHT; KERSHAW, 2019).

Visto a complexidade da obesidade e os diferentes fatores associados à sua etiologia, o primeiro passo para iniciar o tratamento é a determinação individualizada da causa desta patologia. A obesidade pode ser causada por comportamentos alimentares inadequados, como uma dieta desequilibrada, influenciada pelo ambiente e a sociedade onde o indivíduo se insere, por estímulos ambientais (intrauterinos e pós-natais), e por disfunções endócrinas e genéticas (HOCHBERG, 2018).

2.1.2 Obesidade e desordens imunometabólicas

As alterações nas funções endócrinas e metabólicas do tecido adiposo possuem estreita relação com a gênese da obesidade. O acúmulo de lipídeos no tecido adiposo, comum em indivíduos obesos, levam ao desencadeamento do processo inflamatório por meio da produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas pelos adipócitos, incluído $TNF\alpha$, IL-6, leptina, resistina, proteína C reativa, proteína quimiotática para monócitos (MCP-1) entre outras. Enquanto em indivíduos eutróficos, o tecido adiposo produz em quantidade inferior

estas proteínas quando comparado à indivíduos obesos (BULLO et al., 2007; FERRANTE, 2007; SHAH et al., 2008).

As adipocinas são moléculas sinalizadoras secretadas pelos adipócitos, ou derivadas de outros componentes do tecido adiposo branco como células imunes e os fibroblastos (YAMAWAKI, 2011; ROURKE; DRANSE; SINAL, 2013). As adipocinas são proteínas que funcionam como hormônios circulantes e possuem a capacidade de se comunicarem com o tecido adiposo e outros órgãos, como fígado, cérebro e também o sistema imune (MARREIRO, 2013; VERRIJIN STUART et al., 2013).

A leptina, é uma proteína sintetizada principalmente pelo tecido adiposo branco, possui forte relação com a obesidade, uma vez que as concentrações séricas de leptina possuem relação direta com o tamanho e número dos adipócitos, e conseqüentemente com o percentual de gordura corporal (MATSUBARA; MARUOKA; KATAYOSE, 2002). A principal função da leptina é o controle da homeostase energética através da diminuição da ingestão alimentar e do aumento do gasto energético. O jejum prolongado diminui os níveis séricos de leptina, enquanto possui relação direta com o aumento da ingestão alimentar e do TNF α (SAHU, 2004).

O TNF α foi a primeira citocina identificada no tecido adiposo de camundongos obesos. Esta citocina pode ser produzida pelos macrófagos e outras células do sistema imunológico além dos tecidos muscular, linfóide e adiposo, sendo que quando produzida pelo tecido adiposo o TNF α é caracterizado como uma adipocina. (NGUYEN et al., 2005; WANG et al., 2008). O TNF α pode inibir a fosforilação da tirosina presente no substrato-1 do receptor de insulina (IRS-1) fazendo com que ocorra uma resistência à insulina, o que foi observado em um estudo com ratos obesos (RUI et al., 2001). Além disso, o aumento de triacilgliceróis e ácidos graxos livres podem induzir o aumento da expressão de TNF α . Morin et al. (1997) observou um aumento significativo da expressão de TNF α e alteração da via de sinalização insulínica em roedores alimentados com dieta hiperlipídica.

A inflamação do tecido adiposo reduz a produção de adiponectina. A adiponectina é uma proteína sintetizada exclusivamente pelo tecido adiposo, é uma adipocina que apresenta efeito anti-inflamatório, antiaterogênico e sensibilizador à insulina, levando ao agravamento da resistência à insulina, da inflamação e do estresse oxidativo (ALARD, et al. 2015; BÖRGESON, et al.; 2013; KACSO et al., 2012). Em contraste com as demais proteínas, a síntese desta adipocina diminui com o aumento do tecido adiposo e níveis séricos de

adiponectina aumentados são um fator de proteção para o diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (GUIMARÃES et al., 2007).

Outra adipocina importante no contexto da obesidade e que possui forte relação com o desenvolvimento da resistência à insulina é a resistina (STEPPAN et al., 2001). Níveis séricos elevados de resistina são observados na obesidade genética ou induzida pela dieta e, portanto, estão ligados à resistência à insulina associada a um aumento no peso corporal (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004). De acordo com Fantuzzi (2005) e COSTA & DUARTE (2006) a expressão de resistina nos adipócitos humanos é reduzida, e elevada nos macrófagos e monócitos, sugerindo então um importante papel inflamatório desta adipocina.

A quemerina é uma proteína quimioatrativa de células imunes, que está associada à obesidade, inflamação e aterosclerose (CASH; NORLING; PERRETTI, 2014). Esta adipocina apresenta autócrina e parácrina no desenvolvimento dos adipócitos e função endócrina na imunidade e no metabolismo (ROURKE; DRANSE; SINAL, 2013). A ação da quemerina no metabolismo da glicose e lipídios ocorre no fígado e tecido adiposo, modulando a secreção e a sensibilidade à insulina, promovendo a regulação da captação de glicose e estimulando a lipólise nos adipócitos (ROMAN; PARLEE; SINAL, 2012; VERRIJIN STUART et al., 2013).

2.1.3 Obesidade e estresse oxidativo

O acúmulo de gordura, o aumento da glicemia, e o estado inflamatório, característicos da obesidade, favorecem o aumento do estresse oxidativo (EO) intracelular. O estresse oxidativo é resultante de um desequilíbrio metabólico entre a produção excessiva de compostos oxidantes e produção ineficiente e/ou diminuída de mecanismos de defesa antioxidante. O EO está envolvido em um grande número de patologias e pode causar danos aos tecidos e órgãos (BUONOCORE; GROENENDAAL, 2007; GOETZ; LUCH, 2008).

Os danos causados pelo EO consistem na produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), dentre elas os radicais livres e peróxidos (GENESTRA, 2007). A obesidade leva ao aumento do estresse oxidativo (YAMATO et al., 2007), sendo um dos mecanismos o aumento de lesões celulares progressivas, oriundas da pressão exercida pela massa corporal excessiva (FRANÇA et al., 2013; MARTINS et al., 2014; OTANI et al., 2011), Outro fator que está associado ao excesso de peso e também à formação de EROS é a hiperglicemia, uma vez que

promove geração de ânion superóxido através das vias do poliol, hexosamina, proteína kinase C e da geração de produtos avançados de glicação, resultando em estresse oxidativo (GRATTAGLIANO et al., 2008).

Enzimas como NADPH oxidase e óxido nítrico sintase envolvidas na produção de EROS estão aumentadas em indivíduos obesos, o que também pode justificar o aumento do estresse oxidativo nestes indivíduos (PARK; CHUNG; KIM, 2007). Outro mecanismo envolvido no aumento de EROS na obesidade está relacionado ao acúmulo de gordura visceral, levando ao aumento da secreção de adipocinas e citocinas pró-inflamatórias nos adipócitos esta secreção desregulada aumenta a transcrição de genes codificadores de proteínas inflamatórias e potencializa a resistência insulínica, que também aumenta os níveis de EO, desencadeando um ciclo que potencializa a formação de EROS (GRATTAGLIANO et al., 2008).

O sistema antioxidante do organismo é composto por componentes enzimáticos e não enzimáticos que possuem função complexa na regulação de EROS. O sistema enzimático conta com enzimas como a superóxido dismutase (SOD) que compreende a primeira linha de defesa contra os radicais superóxido, que são convertidos em oxigênio e peróxido de hidrogênio por esta enzima, e a catalase que catalisa a reação de transformação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Dentre os componentes não enzimáticos têm-se as vitaminas (C e E), a ubiquinona, o ácido úrico, a bilirrubina, a ceruloplasmina, a taurina, os flavonóides e outros compostos fenólicos de origem vegetal (POWERS; JACKSON, 2008).

Além das correlações da obesidade com o estresse oxidativo, onde há uma maior produção celular de espécies reativas de oxigênio em detrimento das defesas antioxidantes enzimáticas, a alimentação deficiente em frutas e hortaliças característica da sociedade ocidental, compromete também os componentes não enzimáticos do sistema de defesa antioxidante, aumentando ainda mais o risco para o desenvolvimento de doenças crônicas associadas à obesidade, como doenças cardiovasculares e câncer (CONCEIÇÃO et al., 2013; PORTELLA et al., 2015).

2.2 Programação metabólica

A programação metabólica resultante das experiências iniciais da vida, isto é, desde o período fetal até a primeira infância, é um fenômeno científico aceito e tem sido explorado a

fim de avaliar as alterações no metabolismo em estágios de plasticidade do desenvolvimento, isto é, uma fase de frequente multiplicação e diferenciação celular. Alterações e condições específicas durante este período dão origem a resultados posteriores de vida, o que pode ser observado quando a desnutrição, obesidade e diabetes materna contribuem para o desenvolvimento da obesidade na prole (LEVIN, 2006; HANLEY et al., 2010).

A nutrição adequada é de suma importância desde o período neonatal, uma vez que nos primeiros anos de vida o indivíduo está exposto à programação metabólica, sendo capaz de modular o risco futuro de obesidade e outras doenças crônicas. Estes efeitos transgeracionais têm sido explicados através de alterações ao nível da maquinaria epigenética, ou seja, modificações químicas do DNA que não alteram a sequência nucleotídica, mas que alteram a probabilidade da transcrição dos genes e podem estabelecer associações plausíveis entre a nutrição intrauterina e pós-natal com o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta, entre elas a obesidade (PEASTON; WHITELAW, 2006; GODFREY; GLUCKMAN; HANSON, 2010; CALKINS; DEVA SKAR, 2011).

A programação metabólica é um fenômeno estimulado por alterações nutricionais e/ou hormonais que acontecem em fases sensíveis de desenvolvimento da vida, de intensas mudanças morfológicas e funcionais, como a gestação e a lactação. Estes períodos são as etapas mais vulneráveis do organismo à programação metabólica, sendo assim denominadas "janelas de programação". Alterações nutricionais, hormonais e/ou metabólicas que acontecem nessas etapas tem grande impacto sobre o organismo, acarretando em alterações e adaptações a nível celular, tecidual e sistêmico com repercussões para o estado de saúde na vida adulta. Tais mudanças metabólicas e funcionais, determinam maior predisposição a patologias crônicas na vida adulta, como diabetes mellitus tipo 2 e obesidade (A WATERLAND; GARZA, 1999; GUILLOTEAU, et al. 2009).

Um dos pioneiros no estudo da programação metabólica, Barker explica o conceito no qual o crescimento fetal pode afetar o desenvolvimento de doenças na fase adulta. O crescimento intrauterino é conhecido como um "período crítico de desenvolvimento", uma vez que períodos críticos são determinados por crescimento e diferenciação celular acelerados, o que acontece também no período pós-natal. A programação metabólica decorrente deste período apresenta efeitos duradouros ou ao longo da vida (BARKER, 1998). Para elucidar o conceito de programação metabólica, Barker e colaboradores (1998) utilizaram dados de coortes históricas dos nascidos na década de 1930 e se beneficiaram dos registros de nascimento, mantidos pelo mesmo indivíduo por longos períodos de tempo. Tais

dados permitiram relações claras entre tamanho, forma e massa placentária de uma criança ao nascer com hipertensão mais tarde na vida.

Estudos epidemiológicos foram essenciais para a ligação inicial entre a nutrição adequada em períodos críticos e o desenvolvimento de patologias (CAMPBELL et al., 1996; ERIKSSON et al., 2003; NESS, 2004; SMITH et al., 2007). Um dos estudos mais exemplares neste âmbito foi o estudo de coorte Longitudinal Avon de Pais e Filhos (ALSPAC), que foi a fonte para uma série de publicações em que relacionam a nutrição precoce com a obesidade infantil e na fase adulta, e com diversas patologias associadas à obesidade, como as doenças cardiovasculares (NESS, 2004).

A condição metabólica materna e a dieta na gestação e lactação influenciam exponencialmente o ambiente perinatal, dispondo o indivíduo à programação metabólica e impactando em longo prazo o balanço energético da prole e trazendo risco de desenvolvimento de doenças metabólicas e cardiovasculares (SULLIVAN; SMITH; GROVE, 2011).

2.3 Ácidos graxos ω -3

Os lipídeos são nutrientes altamente calóricos e, portanto, classicamente considerados como uns dos responsáveis pelo desenvolvimento da obesidade. Entretanto, estudos recentes têm chamado atenção ao perfil de AG da dieta, uma vez que ácidos graxos monoinsaturados ω -9 e poliinsaturados ω -6 e ω -3 podem apresentar diversos efeitos benéficos à saúde (GILL et al., 2012; NIGAM et al., 2014; RAMIREZ-RAMIREZ et al., 2013; SHINTO et al., 2013; SOFI et al., 2010).

Os AG são definidos como ácidos carboxílicos que possuem, na maioria das vezes, uma cadeia hidrocarbônica longa, não ramificada e com número par de átomos de carbono. Eles podem ser saturados ou conter uma ou mais duplas ligações, chamadas de insaturações, e são classificados de acordo com sua cadeia carbônica, sendo um AG de cadeia curta (2 a 4 carbonos), média (6 a 10 carbonos) e longa (acima de doze carbonos) (DAS, 2006).

O corpo humano é capaz de sintetizar diferentes ácidos graxos, mas não o ácido linoleico (ω -6) ou o ácido α -linolênico (ω -3), pois os mamíferos não possuem as enzimas dessaturases Δ 12 (inserção de insaturação entre carbonos 3-4) e Δ 15 (inserção entre carbonos 6-7), as quais são responsáveis pela síntese destes ácidos graxos poliinsaturados. Desta forma, estes AG devem ser regularmente ingeridos através da dieta, sendo assim chamados de ácidos

graxos essenciais. O ω -3 é o precursor para a síntese dos ácidos eicosapentaenóico (EPA), docosapentaenóico (DPA) e docosaexaenóico (DHA) no corpo humano. Os AG essenciais são encontrados em óleos vegetais (óleo de soja, chia, canola, linhaça, amêndoas) e de peixes, que contém EPA e DHA (ALBRACHT-SCHULTE et al., 2018).

A ingestão de ácidos graxos essenciais na dieta e a atividade das enzimas dessaturase de ácidos graxos determinam os níveis plasmáticos de ω -3. A proporção balanceada de ácidos graxos ω -6: ω -3 é de extrema importância para a homeostase do indivíduo durante toda a vida. O consumo elevado dos AG ω -6 na dieta ocidental, faz com que a proporção destes compostos aumente da faixa ideal (3:1 a 4:1) para 10:1 a 20:1, o que pode desempenhar um papel importante na patogênese da obesidade e doenças relacionadas, visto que estes AG têm ações opostas no processo inflamatório, com o ω -6 exercendo maior potencial inflamatório comparado ao ω -3 (ALBRACHT-SCHULTE et al., 2018).

Desta forma, os ácidos graxos poliinsaturados da classe ω -3 vêm despertando grande interesse nas últimas décadas, uma vez que apresentam efeitos benéficos na melhora da função imunitária e estresse oxidativo (NIGAM et al., 2014), das dislipidemias (GILL et al., 2012), auxiliando no controle de patologias associadas aos hábitos alimentares modernos, sendo assim, uma possível ferramenta a ser utilizada no tratamento destas doenças.

2.3.1 Efeitos imunometabólicos da suplementação com ω -3

Os ácidos graxos da série ω -3 apresentam diversos efeitos de modulação sobre eventos biológicos, como a concentração de lipídeos plasmáticos, fluidez de membrana, transdução de sinal e expressão gênica, função imunitária, sinalização da insulina, desenvolvimento neuronal, entre outras. Os AGPI, nos quais o ômega-3 se inclui, são considerados potentes ativadores de receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPAR), os quais são capazes de controlar a expressão de genes envolvidos no metabolismo de glicose e lipídios (BORSONELO & GALDURÓZ, 2008; LOMBARDO; CHICCO, 2006; POULSEN; SIERSBÆK; MANDRUP, 2012).

Estudos acerca das propriedades dos AGPI ω -3 têm crescido nos últimos anos e apesar de seu papel anti-inflamatório (SIRIWARDHANA; KALUPAHANA; MOUSTAID-MOUSSA, 2012; SPENCER et al., 2013; YAN et al., 2013) e hipotrigliceridêmico (ALIGETI et al., 2007; SCORLETTI et al., 2015; TATSUNO et al., 2013) bem estabelecidos, os mecanismos moleculares interrelacionados ainda estão em debate. Resultados de estudos com

experimentação animal incentivam os estudos em humanos, os quais investigam o potencial nutracêutico do ω -3 e sua aplicação clínica para o tratamento das doenças associadas ao estilo de vida do século XXI, o que leva a elucidação dos mecanismos de ação destes compostos (ALBRACHT-SCHULTE et al., 2018).

A suplementação com óleo de peixe pode reduzir o estresse oxidativo e a produção de EROS em animais e seres humanos. De acordo com Wang (2004) a suplementação com óleo de peixe resulta na indução da expressão de enzimas antioxidantes e, portanto pode ser mediada por um efeito nos fatores de transcrição. Os ácidos graxos da série ω -3, como descrito anteriormente, possuem capacidade de se ligar à fatores de transcrição, levando à sua ativação e posterior modulação de toda uma via, tanto relacionada ao metabolismo de carboidratos quanto ao de lipídeos.

Um dos fatores que podem se relacionar com o ω -3 é o fator de transcrição proteína 1C ligadora do elemento regulatório de esterol (SREBP-1c). A família SREBP foi estabelecida como um grupo de fatores de transcrição reguladores da transcrição de genes envolvidos na síntese e esterificação de colesterol e ácidos graxos (CINTRA et al., 2012; ABREU, 2014).

Há uma interação indireta entre os AGPI e o SREBP, acarretando na sua inibição. Apesar deste mecanismo ainda não estar esclarecido, há uma hipótese de que os AGPI atuem através da diminuição da estabilidade do mRNA deste gene. A suplementação com ω -3 promove a incorporação destes AG nas membranas celulares, e inibem a ligação de receptores hepáticos X (LXR), um dos principais ativadores da transcrição SREBP-1c, promovendo a diminuição da estabilidade do mRNA deste gene e conseqüentemente reduzindo sua expressão (CHIU et al., 2017; NUNZIO et al., 2009). Ainda que o mecanismo não esteja bem definido, presume-se que o SREBP possa se relacionar com os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs), que regulam a expressão de diversos genes relacionados ao metabolismo de lipídeos e de glicose. Uma superexpressão de PPARs reprime a ativação do eixo LXR/RXR, fazendo com que ocorra um aumento da ligação do PPAR ao RXR, diminuindo a quantidade dos heterodímeros LXR/RXR, acarretando na inibição da expressão de SREBP-1c ativada pelo ligante LXR (YOSHIKAWA et al., 2003).

Os PPAR são subdivididos em α , γ e β , sendo os PPAR α e PPAR γ as duas principais categorias destes receptores (LEFTEROVA et al., 2014). O PPAR α estimula a oxidação dos ácidos graxos em tecidos com alta taxa metabólica, como o fígado, com ação mais restrita à captação de ácidos graxos, beta-oxidação e cetogênese. A ativação do PPAR α induz a

expressão de acylCoA oxidase e aumenta a oxidação de ácidos graxos no fígado (CORONA; DUCHEN, 2016). Em contrapartida, o PPAR γ atua como regulador chave na adipogênese e armazenamento de lipídios nos adipócitos, além de regular a expressão das enzimas acil-CoA sintetase e lipase lipoprotéica (LPL), e da proteína transportadora de ácidos graxos 1 (FATP-1) e CD36, envolvidos na captação de lipídeos pelos adipócitos. O PPAR γ está associado à melhora na sensibilidade insulínica. Agonistas do PPAR γ são amplamente utilizados na prática clínica para o tratamento do diabetes tipo 2 (TAVARES; HIRATA; HIRATA, 2007).

Estudos prévios relataram que os ω -3 possibilitam o aumento da beta oxidação através do estímulo ao PPAR α no fígado, e conseqüentemente induzem a proliferação deste peroxissomo no fígado. Foi determinado in vitro que AG ω -3 como o EPA e o DHA possuem a capacidade de se ligar ao PPAR α e atuarem como reguladores primários dos eventos transcricionais (LIU et al. 2014; NESCHEN et al. 2002).

Um estudo recente demonstrou importante papel do ω -3 na inibição da SCD1, enzima dessaturase limitante, localizada no retículo endoplasmático, que catalisa a biossíntese de ácidos graxos monoinsaturados, a partir de palmitoil-CoA e estearoil-CoA. Os AG ω -3 induzem a autofagia mediada pela SCD1, revertendo assim, o acúmulo de lipídeos no tecido hepático. A SCD1 desempenha um papel importante na regulação da composição de ácidos graxos de membrana e na sua manutenção, fluidez e homeostase lipídica. Uma superexpressão de SCD1 está relacionada à doenças como obesidade e resistência à insulina. No entanto, perda completa na sua expressão tem sido implicada na disfunção hepática (CHEN et al., 2015).

2.3.2 Suplementação materna com ω -3

Dado as propriedades benéficas do ω -3, e os efeitos da programação metabólica em períodos críticos do desenvolvimento, como a gestação e a lactação, estudos mais recentes uniram as duas particularidades e iniciaram a pesquisa sobre a suplementação materna com óleo de peixe a fim de elucidar os possíveis efeitos na prole (ASSERHØJ, et. al. 2008; FOSTER, et al. 2017; MUHLHAUSLER, et al. 2016; RYTTER, et al. 2011; RYTTER, et al. 2013; SHOMONOV-WAGNER; RAZ; LEIKIN-FRENKEL, 2015). Entretanto, os resultados permanecem inconclusivos, onde mais estudos se fazem necessários a fim de obter resultados concisos sobre o efeito deste composto bioativo nos eventos de programação metabólica e obesidade.

Em um ensaio clínico, onde foi avaliado o efeito da suplementação materna com o óleo de peixe, durante os quatro primeiros meses de lactação observou-se o aumento da pressão arterial diastólica e da ingestão energética, especialmente nos filhos do sexo masculino, entretanto quando avaliado o nível de atividade física, este foi menor também nos meninos e a composição corporal não diferiu quando avaliado em ambos os sexos aos sete anos de idade. Desta forma, pode-se inferir que a ingestão precoce de ω -3, através do leite materno, pode ter efeitos adversos e que devem ser investigados em estudos futuros, uma vez que o leite materno tem impacto direto sobre o crescimento e metabolismo do organismo em desenvolvimento, o que exige uma maior atenção ao que se oferta aos filhos nesta etapa (ASSERHØJ, et. al. 2008).

Assim como o período de lactação é uma janela para a programação metabólica, o ambiente intra-uterino também é ideal para tal modulação, desta forma a suplementação da gestante com óleo de peixe também têm sido avaliada. Estudos avaliaram a suplementação materna com óleo de peixe em diferentes tempos gestacionais, durante o segundo e terceiro trimestres, e a partir da segunda metade da gestação e não foi observado efeito do óleo de peixe sobre os parâmetros de composição corporal dos filhos (RYTTER, et al. 2011; RYTTER, et al. 2013; MUHLHAUSLER, et al. 2016).

2.4 Modelos animais para indução de obesidade

Em virtude do crescimento da incidência mundial da obesidade, esta se evidencia como tema central de investigações científicas em diversos países. Desta forma, a utilização de modelos experimentais para estudo da obesidade se faz necessária. Entretanto, os modelos animais devem usados a fim de auxiliar a busca de novas medidas preventivas e/ou terapêuticas para o tratamento desta patologia (HABBOUT et al., 2013).

Para este fim, é necessário que estes modelos compartilhem das diversas características da obesidade humana, assim como de suas comorbidades. Não há um modelo experimental perfeito, que sintetize todos os aspectos da obesidade humana, porém os modelos de roedores permitem uma visão de mecanismos específicos da doença e suas consequências, e estão amplamente disponíveis no âmbito da pesquisa (LUTZ, 2018).

O modelo mais utilizado para a indução da obesidade e suas comorbidades tem sido através da oferta de uma dieta hipercalórica, como as dietas hiperlipídicas, hiperglicídicas ou ambas, que mimetizam o consumo alimentar de grande parte da população. Apesar de

correlacionar o ganho de peso e o acúmulo de tecido adiposo em humanos, tal modelo tem as características de reversão da obesidade quando o consumo da dieta cessa. Outros modelos se baseiam em manipulações genéticas, como os animais *knockin* e *knockout*, para o desenvolvimento da obesidade. Atualmente tem sido utilizado também o modelo de indução da obesidade através da criação de animais em pequenas ninhadas e este vem apresentando resultados interessantes (LUTZ, 2018; ROSINI; SILVA; MORAES, 2012).

A hiperalimentação pós-natal através da redução de ninhadas é um modelo animal estabelecido para o estudo das modificações ambientais, como a hipernutrição precoce, que ocorre durante este período crítico do desenvolvimento, sendo consolidado para o estudo das consequências à curto e longo prazo da obesidade infantil (CONCEIÇÃO et al., 2013; PORTELLA et al., 2015). O precoce ganho de peso pós-natal pode levar a intolerância à glicose e redução da sensibilidade à insulina, uma vez que esta fase do desenvolvimento é vista como uma janela para a programação do metabolismo glicídico, sendo assim, um fator de risco para o diabetes tipo 2 na fase adulta (DU et al., 2015).

Assim, como causa uma influência no metabolismo da glicose, o modelo de hiperalimentação pós-natal foi associado à persistentes alterações do metabolismo, como intolerância à glicose, dislipidemias, hipertensão arterial, obesidade e hiperfagia (CONCEIÇÃO et al., 2013).

No modelo indutor de obesidade por hiperalimentação neonatal, através da redução do tamanho das ninhadas, geralmente realizado com roedores, as ninhadas são reduzidas logo após o nascimento dos filhotes, a fim de induzir maior ingestão alimentar, proveniente da maior oferta de leite, devido à redução da competição durante o período de amamentação. Como resultado, tem-se o aumento de peso moderado (cerca de 30% a mais que as ninhadas controle) e este excesso de peso permanece em menor grau durante a vida adulta (roedores de 10% a 25% mais pesados que a ninhada controle) (BULFIN et al., 2011; HABBOUT et al., 2013; XIAO et al. 2007).

Através do exposto, pode-se concluir que modelo de hiperalimentação pós-natal é um modelo efetivo na indução de obesidade na vida adulta. E sua grande vantagem em relação aos demais modelos experimentais consiste na alteração alimentar ocorrer ainda na primeira infância. Isso viabiliza investigações sobre possíveis alterações da ingestão e do estado nutricional em seres humanos nesta mesma fase, sendo de extrema importância visto o padrão alimentar inadequado da população.

3 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente estudo, o modelo de hiperalimentação pós-natal foi efetivo na indução de ganho de peso, assim como alterações metabólicas, inflamatórias e no estresse oxidativo. Os dados apresentados neste trabalho são a primeira evidência de que a suplementação materna com óleo de peixe apresenta importante efeito atenuante das alterações metabólicas decorrentes da hiperalimentação pós-natal.

REFERÊNCIAS

A WATERLAND, Robert; GARZA, Cutberto. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **The American Journal Of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 69, n. 2, p.179-197, 1 fev. 1999. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/69.2.179>.

ABREU, Isabel Cristina Mallosto Emerich de et al. Hypercholesterolemic diet induces hepatic steatosis and alterations in mRNA expression of NADPH oxidase in rat livers. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, [s.l.], v. 58, n. 3, p.251-259, abr. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0004-2730000002831>.

ALBRACHT-SCHULTE, Kembra et al. Omega-3 fatty acids in obesity and metabolic syndrome: a mechanistic update. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 58, p.1-16, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.02.012>.

ALIGETI, Venkata R. et al. Effect of Combination Lipid-Modifying Therapy on the Triglyceride Lowering Effect of Fish Oil. **The American Journal Of The Medical Sciences**, [s.l.], v. 333, n. 3, p.168-172, mar. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1097/maj.0b013e3180312ebf>.

ASSERHØJ, Marie et al. Maternal Fish Oil Supplementation during Lactation May Adversely Affect Long-Term Blood Pressure, Energy Intake, and Physical Activity of 7-231 Year-Old Boys. **The Journal Of Nutrition**, [s.l.], v. 139, n. 2, p.298-304, 12 dez. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.3945/jn.108.095745>.

BARKER, D. J. P.. In utero programming of chronic disease. **Clinical Science**, [s.l.], v. 95, n. 2, p.115-128, 1 ago. 1998. Portland Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.1042/cs0950115>.

BÖRGESON, E.; SHARMA, K. Obesity, immunomodulation and chronic kidney disease. **Current Opinion in Pharmacology**, v.13, p.1-7, 2013.

BORSONELO, E.c.; GALDURÓZ, J.c.f.. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in development, aging and substance abuse disorders: Review and propositions.

Prostaglandins, Leukotrienes And Essential Fatty Acids, [s.l.], v. 78, n. 4-5, p.237-245, abr. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plefa.2008.03.005>.

BULFIN, Lauren J. et al. Anxiety and hypothalamic–pituitary–adrenal axis responses to psychological stress are attenuated in male rats made lean by large litter rearing. **Psychoneuroendocrinology**, [s.l.], v. 36, n. 7, p.1080-1091, ago. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.01.006>.

BULLO, M.; CASAS-AGUSTENCH, P.; AMIGO-CORREIG, P.; ARANCETA, J.; SALAS-SALVADO, J. Inflammation, obesity and comorbidities: the role of diet. **Public Health Nutrition**, v. 10, n. 10A, p. 1164-1172, 2007.

BUONOCORE, Giuseppe; GROENENDAAL, Floris. Anti-oxidant strategies. **Seminars In Fetal And Neonatal Medicine**, [s.l.], v. 12, n. 4, p.287-295, ago. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2007.01.020>.

CALKINS, Kara; DEVASKAR, Sherin U.. Fetal Origins of Adult Disease. **Current Problems In Pediatric And Adolescent Health Care**, [s.l.], v. 41, n. 6, p.158-176, jul. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cppeds.2011.01.001>.

CAMPBELL, D. M. et al. Diet in pregnancy and the offspring's blood pressure 40 years later. **Bjog: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, [s.l.], v. 103, n. 3, p.273-280, mar. 1996. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0528.1996.tb09718.x>.

CASH, Jenna L.; NORLING, Lucy V.; PERRETTI, Mauro. Resolution of inflammation: targeting GPCRs that interact with lipids and peptides. **Drug Discovery Today**, [s.l.], v. 19, n. 8, p.1186-1192, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2014.06.023>.

CHEN, Yi et al. ω -3 Fatty acids reverse lipotoxicity through induction of autophagy in nonalcoholic fatty liver disease. **Nutrition**, [s.l.], v. 31, n. 11-12, p.1423-1429, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2015.05.022>.

CHIU, Chen-yuan et al. The regulatory effects of fish oil and chitosan on hepatic lipogenic signals in high-fat diet-induced obese rats. **Journal Of Food And Drug Analysis**, [s.l.], v. 25, n. 4, p.919-930, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.015>

CINTRA, Dennys E. et al. RETRACTED: Reversion of hepatic steatosis by exercise training in obese mice. **Life Sciences**, [s.l.], v. 91, n. 11-12, p.395-401, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2012.08.002>.

CONCEIÇÃO, Ellen P.s. et al. Oxidative stress programming in a rat model of postnatal early overnutrition — role of insulin resistance. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 24, n. 1, p.81-87, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.02.010>.

CORONA, Juan Carlos; DUCHEN, Michael R.. PPAR γ as a therapeutic target to rescue mitochondrial function in neurological disease. **Free Radical Biology And Medicine**, [s.l.], v. 100, p.153-163, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.06.023>.

COSTA, Joana V.; DUARTE, João S. Tecido adiposo e adipocinas. **Acta Médica Portuguesa**, v. 19, n. 3, p. 251-6, 2006.

DAS, Undurti. Essential Fatty Acids - A Review. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, [s.l.], v. 7, n. 6, p.467-482, 1 dez. 2006. **Bentham Science Publishers Ltd.**. <http://dx.doi.org/10.2174/138920106779116856>.

DOMMERMUTH, Ron; EWING, Kristine. Metabolic Syndrome. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, [s.l.], v. 45, n. 1, p.109-129, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pop.2017.10.003>.

DU, Qinwen et al. Postnatal weight gain induced by overfeeding pups and maternal high-fat diet during the lactation period modulates glucose metabolism and the production of pancreatic and gastrointestinal peptides. **Peptides**, [s.l.], v. 70, p.23-31, ago. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2015.05.003>.

ERIKSSON, J. G. et al. Early adiposity rebound in childhood and risk of Type 2 diabetes in adult life. **Diabetologia**, [s.l.], v. 46, n. 2, p.190-194, 8 jan. 2003. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-002-1012-5>.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **Journal Of Allergy And Clinical Immunology**, [s.l.], v. 115, n. 5, p.911-919, maio 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2005.02.023>.

FERRANTE, A. W.. Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. **Journal Of Internal Medicine**, [s.l.], v. 262, n. 4, p.408-414, out. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2007.01852.x>.

FOSTER, Byron et al. Randomized Controlled Trial of DHA Supplementation during Pregnancy: Child Adiposity Outcomes. **Nutrients**, [s.l.], v. 9, n. 6, p.566-576, 2 jun. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu9060566>.

FRANÇA, Bruna Karoline et al. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **Ge Jornal Português de Gastreenterologia**, [s.l.], v. 20, n. 5, p.199-206, set. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpg.2013.04.002>.

GENESTRA, Marcelo. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. **Cellular Signalling**, [s.l.], v. 19, n. 9, p.1807-1819, set. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.04.009>.

GILL, Edward A. et al. Omega-3 Fatty Acids Improve Dyslipidemia But Not Inflammatory Markers in Metabolic Syndrome. **Journal Of Clinical Lipidology**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.278-279, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2012.04.055>.

GODFREY, Keith M.; GLUCKMAN, Peter D.; HANSON, Mark A. Developmental origins of metabolic disease: life course and intergenerational perspectives. **Trends In Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 21, n. 4, p.199-205, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2009.12.008>.

GOETZ, Mario E.; LUCH, Andreas. Reactive species: A cell damaging route assisting to chemical carcinogens. **Cancer Letters**, [s.l.], v. 266, n. 1, p.73-83, jul. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2008.02.035>.

GRATTAGLIANO, Ignazio et al. Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 19, n. 8, p.491-504, ago. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.06.011>.

GUILLOTEAU, P. et al Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments. **Journal of Physiology and Pharmacology**, [s.l.], v. 60 Suppl 3, n. 17-35, oct 2009.

GUIMARÃES, Daniella Esteves Duque et al. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Revista de Nutrição**, [s.l.], v. 20, n. 5, p.549-559, out. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732007000500010>.

HABBOU, Ahmed et al. Postnatal Overfeeding in Rodents by Litter Size Reduction Induces Major Short- and Long-Term Pathophysiological Consequences. **The Journal Of Nutrition**, [s.l.], v. 143, n. 5, p.553-562, 27 fev. 2013. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.3945/jn.112.172825>.

HANLEY, Bryan et al. Metabolic imprinting, programming and epigenetics – a review of present priorities and future opportunities. **British Journal Of Nutrition**, [s.l.], v. 104, n. 1, p.1-25, jul. 2010. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114510003338>.

HERMSDORFF, Helen H.m.; MONTEIRO, Josefina B.r.. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema?. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s.l.], v. 48, n. 6, p.803-811, dez. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302004000600005>.

HOCHBERG, Z. et al. Child Health, Developmental Plasticity, and Epigenetic Programming. **Endocrine Reviews**, [s.l.], v. 32, n. 2, p.159-224, abr. 2011. The Endocrine Society.

KACSO, I.; LENGHEL, A.; BONDOR, C. I.; MOLDOVAN, D.; RUSU, C.; NITA, C.; KACSO, G.; HANCU, N.; CAPRIOARA, M. G. Low plasma adiponectin levels predict increased urinary albumin/creatinine ratio in type 2 diabetes patients. **International Urology and Nephrology**. v.44, p.1151-1157, 2012.

LEFTEROVA, Martina I. et al. PPAR γ and the global map of adipogenesis and beyond. **Trends In Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 25, n. 6, p.293-302, jun. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2014.04.001>.

LEVIN, Barry e. Metabolic imprinting: critical impact of the perinatal environment on the regulation of energy homeostasis. **Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 361, n. 1471, p.1107-1121, 29 jul. 2006. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2006.1851>.

LOMBARDO, Yolanda B.; CHICCO, Adriana G.. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.1-13, jan. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.08.002>.

LUTZ, Thomas A. Considering our methods: Methodological issues with rodent models of appetite and obesity research. **Physiology & Behavior**, [s.l.], p.1-16, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.02.026>.

MARREIRO, D. N. Obesidade: bases bioquímicas e moleculares. In: COZZOLINO, S. M. F.; COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2013. p. 912-933.

MARTIN-RODRIGUEZ, Elena et al. Comorbidity associated with obesity in a large population: The APNA study. **Obesity Research & Clinical Practice**, [s.l.], v. 9, n. 5, p.435-447, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.orcp.2015.04.003>.

MARTINS, Luana Mota et al. Obesity, inflammation, and insulin resistance. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 50, n. 4, p.677-692, dez. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-82502014000400003>.

MATSUBARA, M; MARUOKA, S; KATAYOSE, S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *European Journal Of Endocrinology*, [s.l.], p.173-180, 1 ago. 2002. **Bioscientifica**. <http://dx.doi.org/10.1530/eje.0.1470173>.

MONTEIRO, C. A.; LEVY, R. B.; CAMPOS, G. W. S. Velhos e novos males da saúde no Brasil: de Geisel a Dilma. 1. ed. São Paulo: Editora Hucitec, 2015.

MORIN, Catherine L. et al. High Fat Diets Elevate Adipose Tissue-Derived Tumor Necrosis Factor- α Activity*. **Endocrinology**, [s.l.], v. 138, n. 11, p.4665-4671, 1 nov. 1997. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/endo.138.11.5519>.

MUHLHAUSLER, Beverly S et al. DHA supplementation during pregnancy does not reduce BMI or body fat mass in children: follow-up of the DHA to Optimize Mother Infant Outcome randomized controlled trial. **The American Journal Of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 103, n. 6, p.1489-1496, 30 mar. 2016. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.115.126714>.

MUHLHAUSLER, Beverly Sara et al. Maternal Omega-3 Supplementation Increases Fat Mass in Male and Female Rat Offspring. **Frontiers In Genetics**, [s.l.], v. 2, p.1-10, 2011. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2011.00048>.

NESCHEN, Susanne et al. Contrasting effects of fish oil and safflower oil on hepatic peroxisomal and tissue lipid content. **American Journal Of Physiology-endocrinology And Metabolism**, [s.l.], v. 282, n. 2, p.395-401, 1 fev. 2002. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00414.2001>.

NESS, Andy R. The Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC) – a resource for the study of the environmental determinants of childhood obesity. **European Journal Of Endocrinology**, Bristol, v. 151, n. 3, p.141-149, jan. 2004.

NIGAM, Anil et al. Fish Oil for the Reduction of Atrial Fibrillation Recurrence, Inflammation, and Oxidative Stress. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 64, n. 14, p.1441-1448, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2014.07.956>.

NUNZIO, Mattia di et al. N-3 and n-6 Polyunsaturated fatty acids suppress sterol regulatory element binding protein activity and increase flow of non-esterified cholesterol in HepG2 cells. **British Journal Of Nutrition**, [s.l.], v. 103, n. 02, p.161-167, 14 out. 2009. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s000711450999167x>.

NGUYEN, M. T. Audrey et al. JNK and Tumor Necrosis Factor- α Mediate Free Fatty Acid-induced Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes. **Journal Of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 280, n. 42, p.35361-35371, 5 ago. 2005. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB). <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m504611200>.

OTANI, Hajime. Oxidative Stress as Pathogenesis of Cardiovascular Risk Associated with Metabolic Syndrome. **Antioxidants & Redox Signaling**, [s.l.], v. 15, n. 7, p.1911-1926, out. 2011. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2010.3739>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. Obesity and overweight. OMS, 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 15 de jan.2019.

PARK, Jiyoung; CHUNG, Jun-jae; KIM, Jae Bum. New evaluations of redox regulating system in adipose tissue of obesity. **Diabetes Research And Clinical Practice**, [s.l.], v. 77, n. 3, p.11-16, set. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2007.01.037>.

PEASTON, Anne E.; WHITELAW, Emma. Epigenetics and phenotypic variation in mammals. **Mammalian Genome**, [s.l.], v. 17, n. 5, p.365-374, maio 2006. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00335-005-0180-2>.

PORTELLA, A.k. et al. Litter size reduction alters insulin signaling in the ventral tegmental area and influences dopamine-related behaviors in adult rats. **Behavioural Brain Research**, [s.l.], v. 278, p.66-73, fev. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.033>.

POULSEN, Lars La Cour; SIERSBÆK, Majken; MANDRUP, Susanne. PPARs: Fatty acid sensors controlling metabolism. **Seminars In Cell & Developmental Biology**, [s.l.], v. 23, n. 6, p.631-639, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2012.01.003>.

POWERS, Scott K.; JACKSON, Malcolm J.. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. **Physiological Reviews**, [s.l.], v. 88, n. 4, p.1243-1276, out. 2008. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>.

PRATT, Charlotte A. et al. A Systematic Review of Obesity Disparities Research. **American Journal Of Preventive Medicine**, [s.l.], v. 53, n. 1, p.113-122, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amepre.2017.01.041>.

RAMIREZ-RAMIREZ, V. et al. Efficacy of Fish Oil on Serum of TNF α , IL-1 β , and IL-6 Oxidative Stress Markers in Multiple Sclerosis Treated with Interferon Beta-1b. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2013, p.1-8, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/709493>.

ROMAN, A. A.; PARLEE, S. D.; SINAL, C. J. Chemerin: a potential endocrine link between obesity and type 2 diabetes. **Endocrine**, v. 42, p. 243-251, 2012.

ROSINI, Tiago Campos; SILVA, Adelino Sanchez Ramos da; MORAES, Camila de. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s.l.], v. 3, n. 58, p.383-387, 2012.

ROURKE, J. L.; DRANSE, H. J.; SINAL, C. J. Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease. **Obesity Reviews**, v. 14, p. 245-62, 2013.

RUI, Liangyou et al. Insulin/IGF-1 and TNF- α stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. **Journal Of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 107, n. 2, p.181-189, 15 jan. 2001. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci10934>.

RYTTER, Dorte et al. Intake of fish oil during pregnancy and adiposity in 19-y-old offspring: follow-up on a randomized controlled trial. **American Journal Of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 94, n. 3, p.701-708, 20 jul. 2011. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.111.014969>.

RYTTER, Dorte et al. No association between the intake of marine n-3 PUFA during the second trimester of pregnancy and factors associated with cardiometabolic risk in the 20-year-old offspring. **British Journal Of Nutrition**, [s.l.], v. 110, n. 11, p.2037-2046, 17 maio 2013. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114513001335>.

SAHU, Abhiram. Minireview: A Hypothalamic Role in Energy Balance with Special Emphasis on Leptin. **Endocrinology**, [s.l.], v. 145, n. 6, p.2613-2620, 1 jun. 2004. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2004-0032>.

SCORLETTI, Eleonora et al. Treating liver fat and serum triglyceride levels in NAFLD, effects of PNPLA3 and TM6SF2 genotypes: Results from the WELCOME trial. **Journal Of Hepatology**, [s.l.], v. 63, n. 6, p.1476-1483, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2015.07.036>.

SHAH, A.; MEHTA, N.; REILLY, M. P. Adipose inflammation, insulin resistance, and cardiovascular disease. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 32, n. 6, p. 638-644, 2008.

SHINTO, Lynne et al. A Randomized Placebo-Controlled Pilot Trial of Omega-3 Fatty Acids and Alpha Lipoic Acid in Alzheimer's Disease. **Journal Of Alzheimer's Disease**, [s.l.], v. 38, n. 1, p.111-120, 29 out. 2013. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/jad-130722>.

SHOMONOV-WAGNER, Limor; RAZ, Amiram; LEIKIN-FRENKEL, Alicia. Alpha linolenic acid in maternal diet halts the lipid disarray due to saturated fatty acids in the liver of mice offspring at weaning. **Lipids In Health And Disease**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.1-11, 26 fev. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-015-0012-7>.

SIRIWARDHANA, Nalin; KALUPAHANA, Nishan S.; MOUSTAID-MOUSSA, Naima. Health Benefits of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids. **Marine Medicinal Foods - Implications And Applications - Animals And Microbes**, [s.l.], p.211-222, 2012. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-416003-3.00013-5>.

SMITH, G. Davey et al. Is there an intrauterine influence on obesity? Evidence from parent child associations in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). **Archives Of Disease In Childhood**, [s.l.], v. 92, n. 10, p.876-880, 1 out. 2007. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/adc.2006.104869>.

SOFI, Francesco et al. Effects of a 1-year dietary intervention with n-3 polyunsaturated fatty acid-enriched olive oil on non-alcoholic fatty liver disease patients: a preliminary study. **International Journal Of Food Sciences And Nutrition**, [s.l.], v. 61, n. 8, p.792-802, 13 maio 2010. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2010.487480>.

SOUZA, Elton Bicalho de. Transição nutricional no Brasil: análise dos principais fatores. **Cadernos Unifoa**, Volta Redonda, v. 13, p.49-53, ago. 2010.

SPENCER, M. et al. Omega-3 Fatty Acids Reduce Adipose Tissue Macrophages in Human Subjects With Insulin Resistance. **Diabetes**, [s.l.], v. 62, n. 5, p.1709-1717, 17 jan. 2013. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/db12-1042>.

STEPAN, Claire M. et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, [s.l.], v. 409, n. 6818, p.307-312, jan. 2001. **Springer Nature**. <http://dx.doi.org/10.1038/35053000>.

SULLIVAN, Elinor L.; SMITH, M. Susan; GROVE, Kevin L.. Perinatal Exposure to High-Fat Diet Programs Energy Balance, Metabolism and Behavior in Adulthood. **Neuroendocrinology**, [s.l.], v. 93, n. 1, p.1-8, 2011. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000322038>.

TATSUNO, Ichiro et al. Long-term safety and efficacy of TAK-085 in Japanese subjects with hypertriglyceridemia undergoing lifestyle modification: The omega-3 fatty acids randomized long-term (ORL) study. **Journal Of Clinical Lipidology**, [s.l.], v. 7, n. 6, p.615-625, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2013.09.002>.

TAVARES, Vladimir; HIRATA, Mario Hiroyuki; HIRATA, Rosario D. Crespo. Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (Ppargama): estudo molecular na homeostase da glicose, metabolismo de lipídeos e abordagem terapêutica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s.l.], v. 51, n. 4, p.526-533, jun. 2007. FapUNIFESP (SciELO).

VERRIJIN STUART, A. et al. Altered plasma adipokine levels and in vitro adipocyte differentiation in pediatric type 1 diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 2, p. 463-472, 2012.

VO, Lynn; ALBRECHT, Sandra S.; KERSHAW, Kiarri N.. Multilevel interventions to prevent and reduce obesity. **Current Opinion In Endocrine And Metabolic Research**, [s.l.], v. 4, p.62-69, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coemr.2018.11.002>.

WANG, H. Fish oil increases antioxidant enzyme activities in macrophages and reduces atherosclerotic lesions in apoE-knockout mice. **Cardiovascular Research**, [s.l.], v. 61, n. 1, p.169-176, 1 jan. 2004. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.11.002>.

WANG, S.; SONI, K. G.; SEMACHE, M.; CASAVANT, S.; FORTIER, M.; PAN,L.; MITCHELL, G. A. Lipolysis and the integrated physiology of lipid energy metabolism. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 95, n. 3, p. 117-1126, 2008.

XIAO, Xiao Qiu et al. Excess Weight Gain during the Early Postnatal Period Is Associated with Permanent Reprogramming of Brown Adipose Tissue Adaptive Thermogenesis. **Endocrinology**, [s.l.], v. 148, n. 9, p.4150-4159, set. 2007. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2007-0373>

YAMATO, Mayumi et al. Fatty acids increase the circulating levels of oxidative stress factors in mice with diet-induced obesity via redox changes of albumin. **Febs Journal**, [s.l.], v. 274, n. 15, p.3855-3863, 6 jul. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05914.x>.

YAMAWAKI, H. Vascular Effects of Novel Adipocytokines: Focus on Vascular Contractility and Inflammatory Responses. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.34, n. 3, p. 301-310, 2011.

YAN, Yiqing et al. Omega-3 Fatty Acids Prevent Inflammation and Metabolic Disorder through Inhibition of NLRP3 Inflammasome Activation. **Immunity**, [s.l.], v. 38, n. 6, p.1154-1163, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2013.05.015>.

YOSHIKAWA, Tomohiro et al. Cross-Talk between Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) α and Liver X Receptor (LXR) in Nutritional Regulation of Fatty Acid Metabolism. I. PPARs Suppress Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c Promoter through Inhibition of LXR Signaling. **Molecular Endocrinology**, [s.l.], v. 17, n. 7, p.1240-1254, jul. 2003. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/me.2002-0190>.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO - MATERNAL FISH OIL SUPPLEMENTATION IMPROVES METABOLIC AND INFLAMMATORY DISORDERS AND REDUCES OXIDATIVE STRESS MARKERS IN MICE OVERFEED DURING POSTNATAL PERIOD

O estudo é uma versão preliminar e será submetido à Revista Plos One eISSN 1932-6203, sendo apresentado de acordo com as normas de publicação desta revista.

1
2
3
4 Maternal fish oil supplementation improves metabolic and inflammatory disorders and
5 reduces oxidative stress markers in mice overfed during postnatal period
6
7

8 Isabela Queiroz Perígolo Lopes^{1*¶}, Brenda Loise Monteiro^{1¶}, Adaliene Versiani Matos
9 Ferreira³, Lílian Gonçalves Teixeira¹, Ana Paula Peconick², Andrezza Fernanda Santiago¹,
10 Rodrigo Ferreira de Moura⁴, Isabela Coelho de Castro^{1&}, Laura Cristina Jardim Porto^{1&}
11

12 ¹ Department of Nutrition, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil

13 ² Department of Veterinary Medicine, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas
14 Gerais, Brazil

15 ³ Department of Nutrition, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas
16 Gerais, Brazil

17 ⁴ Department of Health Sciences, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais,
18 Brazil

19
20 * Corresponding author

21 E-mail: laurap@ufla.br (LCJP)
22
23

24 [¶] These authors contributed equally to this work.

25 [&] These authors also contributed equally to this work.
26
27
28
29

30 **Abstract**

31 Obesity is a global major public health problem. Dietary features during intrauterine life
32 and/or postnatal period may contribute to the development of obesity during adulthood. Fish
33 oil supplementation seems to act as coadjuvant treatment to attenuate metabolic disorders,
34 due to its ω -3 polyunsaturated fatty acids contents. Therefore, this paper aimed to investigate
35 fish oil supplementation modulation effects on postnatal overfeeding-related metabolic,
36 inflammatory and oxidative stress markers. Neonatal overfeeding was induced by reducing
37 litter size. The animals were shared into four experimental groups: Control (C) (n = 8);
38 Control + Fish Oil supplementation (CFO) (n = 11); Postnatal overfeeding (PO) (n = 8);
39 Postnatal overfeeding + Fish Oil supplementation (POFO) (n = 14). Fish oil was
40 administered to mothers (1g/kg per gavage technique) during the mating, pregnancy and
41 breastfeeding phases, once a day. The male offspring were monitored to 120 days of age.
42 The OGTT was performed at 70 and 120 days of life of the animals. Weight gain and food
43 intake were monitored weekly. At the end of the experiment, blood, liver and adipose tissue
44 were collected. Metabolic markers were evaluated using commercial kits. Serum adipokines
45 as well as cytokines in adipose tissue were measured by ELISA. Total hepatic lipids content
46 was extracted by Folch technique, and cholesterol and triglycerides was determined by
47 commercial kit. Stress oxidative markers (TBARS and hydroperoxide concentration) and
48 antioxidant enzymes (SOD and CAT) were measured by colorimetric method. Statistical
49 analyzes were performed on GraphPad Prism®. Our results showed that fish oil reduced
50 body weight at 21 days of age, improved glucose tolerance, reduced fasting glucose and total
51 cholesterol and LDL-c, and increased the HDL-c fraction in adulthood. Supplementation
52 with fish oil also prevented the increased in serum levels of leptin and resistin, decreased
53 serum chemerin, and reduced some markers of lipid peroxidation associated to increased

54 catalase activity. As conclusion, maternal supplementation with fish oil has an attenuating
55 effect on metabolic, inflammatory and oxidative stress alterations in mice overfeed during
56 postnatal period.

57

58 **Introduction**

59 Obesity is defined as multifactorial disorder resulting from positive energy balance
60 and body fat accumulation. The projection for 2025 is that about 2.3 billion adults
61 worldwide will be overweight, and there will be more than 700 million obeses [1]. Among
62 the main factors that trigger obesity, genetic predisposition and the environment exert
63 greater influence on the etiopathogenesis of this disorder [2].

64 Proper nutrition is important since the intrauterine period, since in the first years of
65 life the individual is exposed to metabolic programming that is able to modulate risk of
66 obesity and other chronic diseases in the future. Metabolic programming can be described as
67 events that occur in the early stages of life and that generate physiological and metabolic
68 impacts in adult life [3].

69 In addition to the classic experimental models that seek to mimic the effects of
70 obesity in humans using diet as a potential inducer of obesity, the model of postnatal
71 overfeeding has been explored. It has been reported that postnatal overfeeding models may
72 be a predisposing factor for metabolic disorders in adult life [4] . The litter size model
73 consists in reducing the number of pups per female during the breastfeeding period, which
74 reduces competition and increases the availability of food for the offspring [5]. The high
75 prevalence of obesity worldwide and its intimate relationship with the etiopathogenesis of
76 other chronic diseases, promotes an incessant search for strategies to prevention and control
77 of this disease, in which the potential use of fish oil is highlighted.

78 In turn, fish oil (FO) is composed of essential polyunsaturated omega-3 (ω -3) fatty
79 acids, mainly by eicosapentaenoic (EPA) and docosaexaenoic (DHA) acids [6,7].
80 Supplementation with ω -3 has several beneficial effects on the metabolic and inflammatory
81 pathways, such as reduction of plasma lipid concentration, membrane fluidity, signal
82 transduction and gene expression, immune function and insulin signaling [6,8,9]. It is well
83 known that ω -3 like EPA and DHA have the ability to bind to PPAR α and act as primary
84 regulators of transcriptional events [10], and may play a key role in metabolic programming
85 events through epigenetic modifications.

86 In this context, a thorough investigation of the mechanisms involved in metabolic
87 modulation by fish oil, as one of the strategies to attenuate obesity and related diseases, is of
88 great relevance. Thus, this paper aimed to investigate the effect of maternal supplementation
89 with fish oil on the modulation of metabolic and inflammatory markers in mice overfed
90 during postnatal period.

91

92 **Material and methods**

93 **Animals**

94 C57Bl6 mice were obtained from Universidade Federal de Lavras central animal
95 facility (UFLA, Lavras, Brazil) and maintained in our conventional experimental animal
96 facility throughout the experiments. All animal procedures were approved by the local
97 ethical committee for animal research (CEUA/002/2018). Experiments were conducted at
98 the Laboratory of Experimental Nutrition of the Department of Nutrition of the UFLA.

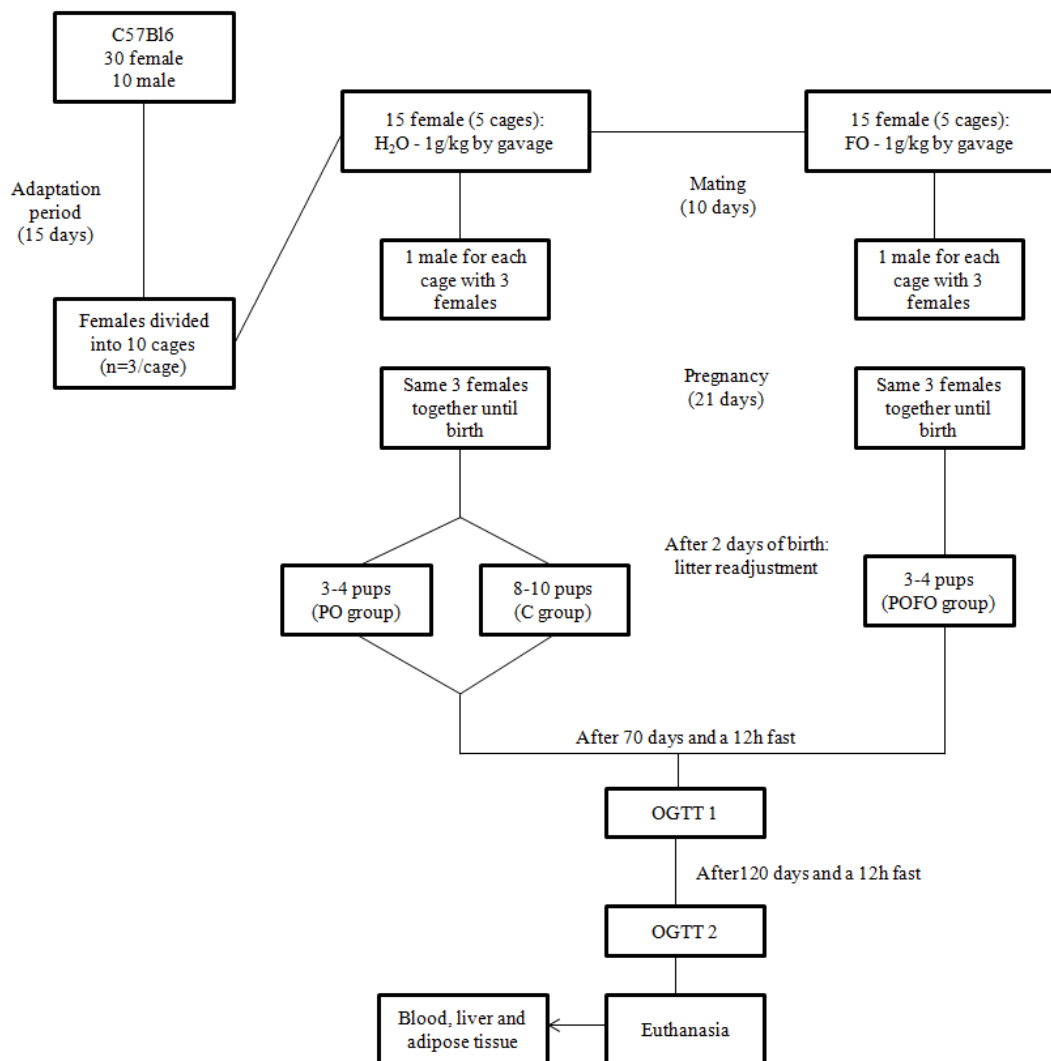
99

100

101

102 Experimental design

103 Forty C57Bl6 mice were used as parents, aged 45-55 days and mean weight of 20g,
 104 of which ten males and thirty females, and thirty three male mice used in the analysis. The
 105 animals were kept in a room with controlled temperature (22 ± 2 °C) and dark–light cycles
 106 (12/12 hours), with free access to water and standard chow (Presence®). The figure 1 shows
 107 the experimental design.



108

109 **Figure 1 - Experimental design.**

110 FO: Fish oil

111 C: Control

112 PO: Postnatal overfeeding

113 POFO: Postnatal overfeeding + fish oil supplementation

114 OGTT: Oral glucose tolerance test

115 Female mice remained in a group of three animals per cage for adaptation period,
116 during fifteen days. After this period, one male was placed for every three females for
117 mating, during a period of ten days. After the mating period, the male was removed and the
118 females remained together until the birth of the animals. To induce overfeeding during
119 lactation, 2 days after birth the litter size was adjusted to 3-4 male rats per litter, forming the
120 groups Postnatal Overfeeding (PO) and Postnatal Overfeeding + Fish Oil supplementation
121 (POFO), as described by Habbout et al. [5]. Litter containing 8-10 pups per mother was
122 used as Control (C). After postnatal day 21 that correspond to weaning period, both groups
123 had free access to water and standard diet.

124 Experimental groups (fish oil and control) were subdivided previously. The mothers
125 received oral gavage with fish oil (FO) or water, at a dose of 1 g/kg body weight (0,15g
126 EPA/0,36g DHA), from the mating to the weaning of the pups (21st day after birth). The
127 fish oil used was obtained from a preparation of marine lipids, rich in ω -3 fatty acids, kindly
128 donated by the Herbarium Foundation® (Curitiba, PR, Brazil), which contains 0.828
129 g/capsule, in the proportion of 0.120 g of EPA and 0.300 g DHA. Body weight and food
130 intake were monitored weekly.

131 After completing 120 days animals were submitted to 12 hours of fasting.
132 Afterwards, animals were anesthetized using a mixture of ketamine (150 mg/kg) and
133 xylazine (10 mg/kg), via intraperitoneal. Liver, epididymal adipose tissue and blood were
134 collected. All tissues were weighed immediately after euthanasia. Blood was centrifuged for
135 serum separation at 1500rpm for 10 minutes in a CentriBio® centrifuge. Serum and tissues
136 were stored at -20 °C until the beginning of the analyzes.

137

138

139

140 **Oral glucose tolerance test**

141 The oral glucose tolerance tests (OGTT) was performed in mice at 70 and 120 days
142 of life. Mice were fasted overnight for 12 h with free access to water. Animals had their
143 blood drawn from tail veins 0, 30, 60, 90 and 120 min after oral glucose administration by
144 oral gavage (2 mg/g body weight). Glucose levels were determined by Accu-Chek
145 glucometer (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA).

146

147 **Determination of metabolic markers**

148 Fasting blood glucose, triacylglycerol, total cholesterol and HDL-cholesterol levels
149 were assayed using colorimetric kits (Labtest, Brazil), according to the manufacturer's
150 instructions. LDL-c fraction was calculated according to the Friedewald (formula: $LDL-c =$
151 $[(triglycerides / 5) + HDL-c] - total\ cholesterol$) [11]. Serum levels of adiponectin, leptin,
152 chemerin and resistin were determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
153 (R&D systems, Europe Ltd., Abington, UK), according to the manufacturer's instructions.

154

155 **Enzyme-linked immunosorbent assay in adipose tissue**

156 Tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin 10 (IL-10) levels were measured
157 from epididymal adipose tissue. These analyses were performed using DuoSet ELISA
158 development kits (R&D System, Inc., Minneapolis, MN, USA) according to the
159 manufacturer's instructions.

160

161

162

163 **Determination of hepatic lipids**

164 Total hepatic lipids were extracted by organic solvents according to Folch et al. [12].
165 Lipid extracts were dried overnight at 37°C, and total lipids quantified. Total cholesterol and
166 triacylglycerols concentrations were measured by commercial kits (Labtest, Brazil), in lipid
167 extracts diluted in 500 mL of isopropanol.

168

169 **Oxidative stress in the liver**

170 Liver samples of 100 mg were homogenized in phosphate buffer saline in mechanical
171 homogenizer. After centrifugation, homogenates were stored at -20°C until analysis. Lipid
172 peroxidation was determined by the detection of thiobarbituric acid reactive substances
173 (TBARS) technique [13]. TBARS levels are represented as nmolMDA/mg protein.
174 Hydroperoxide concentrations were determined according to Banerjee et al. [14]. Total
175 protein content was determined by the Bradford method [15]. Superoxide dismutase (SOD)
176 activity was assayed by measuring the inhibition of auto-oxidation as absorbance at 550 nm
177 [16]. Catalase (CAT) activity was measured by the rate of decrease in H₂O₂ at 240 nm
178 according to the method of Aebi [17].

179 **Statistical analysis**

180 Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6.0 software program
181 (GraphPad softwares, La Jolla, CA, USA). To evaluate the normal distribution of variables,
182 the Shapiro-Wilk test was performed. Comparison between two groups was performed using
183 Student's t test and oneway analysis of variance and Bonferroni post test were used for

184 multiple comparisons. Results are expressed as means with their standard errors with a
185 significance level of 5% ($p < 0.05$).

186

187 **Results**

188 Body weight gain, food intake, and organ weights of the animals is shown in Table 1.

189 At the age of 21 days body weight of postnatal overfeeding group (PO) was greater than the

190 weight of control group (C) ($p < 0.001$) and the postnatal group overfeeding with fish oil

191 (POFO) ($p < 0.05$). At the age of 120 days body weight of PO group remained higher than

192 that of group C ($p < 0.01$), and was not significantly different from the other groups ($p > 0.05$).

193 None of the groups showed variations in the average of food intake over the same period of

194 time ($p > 0.05$). Liver weight was increased in animals of PO group compared to the C group

195 ($p < 0.05$). Epididymal adipose tissue weight of the PO group was higher than the C group

196 ($p < 0.0001$), no differences were observed between PO and POFO group ($p > 0.05$).

197 **Table 1 – Body weight (g), feed intake (g) and organ weights of experimental groups.**

	C	PO	POFO	PO vs C	POFO vs C	POFO vs PO
Food intake mean (g)	22.6±0,8	23,3±0,8	24,8±0,5	ns	ns	ns
BW at 21 days (g)	8.2±0.2	10.2±0.4	9.0±0.2	$p < 0.001$	ns	ns
BW at 120 days (g)	24.7±0.2	26.1±0.3	25.4±0.6	$p < 0.01$	ns	ns
Liver weight (mg/g BW)	41.8±1.7	46.5±1.3	44.9±1.3	$p < 0.05$	ns	$p < 0.05$
Epididymal fat (mg/g BW)	8.9±0.2	14.3±0.7	13.0±0.4	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	ns

198 BW: Body weight; ns: no significant

199 Control (C, n = 8), Postnatal Overfeeding (PO, n = 8) and Postnatal Overfeeding + Fish Oil
200 supplementation (POFO, n = 14). Data presented as mean ± standard error of mean.

201

202 Blood serum analyzes revealed higher values of fasting glucose in the PO group in
 203 relation to the C, and lower values in the POFO group in relation to the PO group ($p < 0.05$).
 204 No difference were observed in triglycerides levels between groups ($p > 0.05$). In addition to
 205 the lipidemic profile, FO supplementation improved total cholesterol and LDL fraction
 206 (POFO vs PO group $p < 0.0001$), which were increased in the overfeeding model (PO vs C
 207 $p < 0.0001$). The HDL-c fraction were increased in the POFO group when compared to the
 208 PO group ($p < 0.05$), and did not differ among other groups. In relation to total hepatic lipid
 209 content, no difference was observed between groups ($p > 0.05$), as well as cholesterol
 210 ($p > 0.05$). Hepatic triglyceride content was higher in the PO group than in the C group
 211 ($p < 0.01$) but did not differ between another groups ($p > 0.05$) (Table 2).

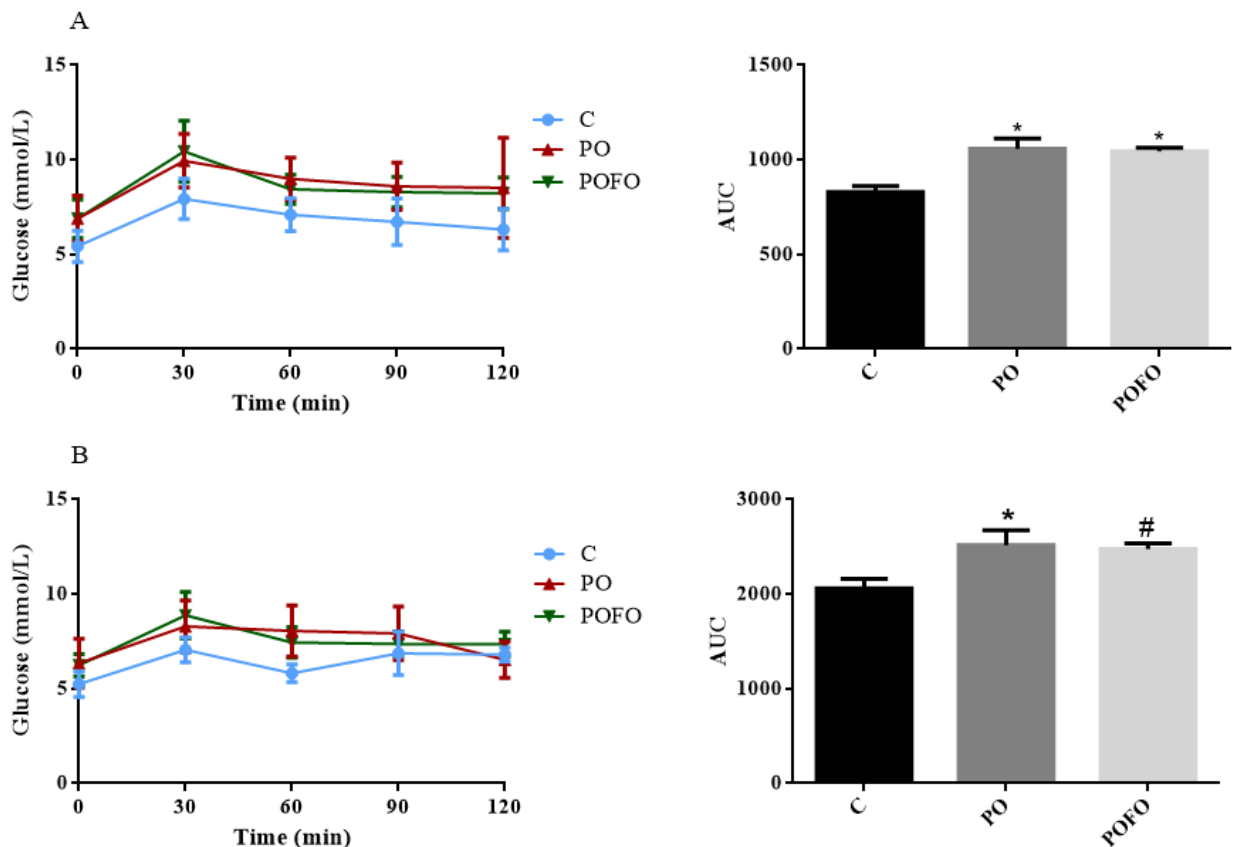
212 **Table 2 – Serum and hepatic metabolic markers of experimental groups.**

	C	PO	POFO	PO vs C	POFO vs C	POFO vs PO
<i>Blood Serum</i>						
Fasting glucose (mmol/L)	6.5±0.3	8.2±0.2*	6.6±0.3	$p < 0.05$	ns	$p < 0.05$
Triglycerides (mmol/L)	0.5±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	ns	ns	ns
Total cholesterol (mmol/L)	1.9±0.1	3.7±0.2	2.3±0.2	$p < 0.0001$	ns	$p < 0.0001$
LDL-c (mmol/L)	0.6±0.1	2.0±0.2	0.6±0.1	$p < 0.0001$	ns	$p < 0.0001$
HLD-c (mmol/L)	1.3±0.1	1.1±0.1	1.6±0.1	ns	ns	$p < 0.05$
<i>Hepatic lipids</i>						
Total lipids (mg of lipids/g of liver)	3.4±0.2	3.2±0.2	4.1±0.4	ns	ns	ns
Cholesterol (mmol/L)	5.0±0.3	5.5±0.3	4.4±0.5	ns	ns	ns
Triglycerides (mmol/L)	2.8±0.3	4.6±0.1	3.3±0.5	$p < 0.01$	ns	ns

213 ns: no significant

214 Control (C, n = 8), Postnatal Overfeeding (PO, n = 8) and Postnatal Overfeeding + Fish Oil
 215 supplementation (POFO, n = 14). Data presented as mean ± standard error of mean.

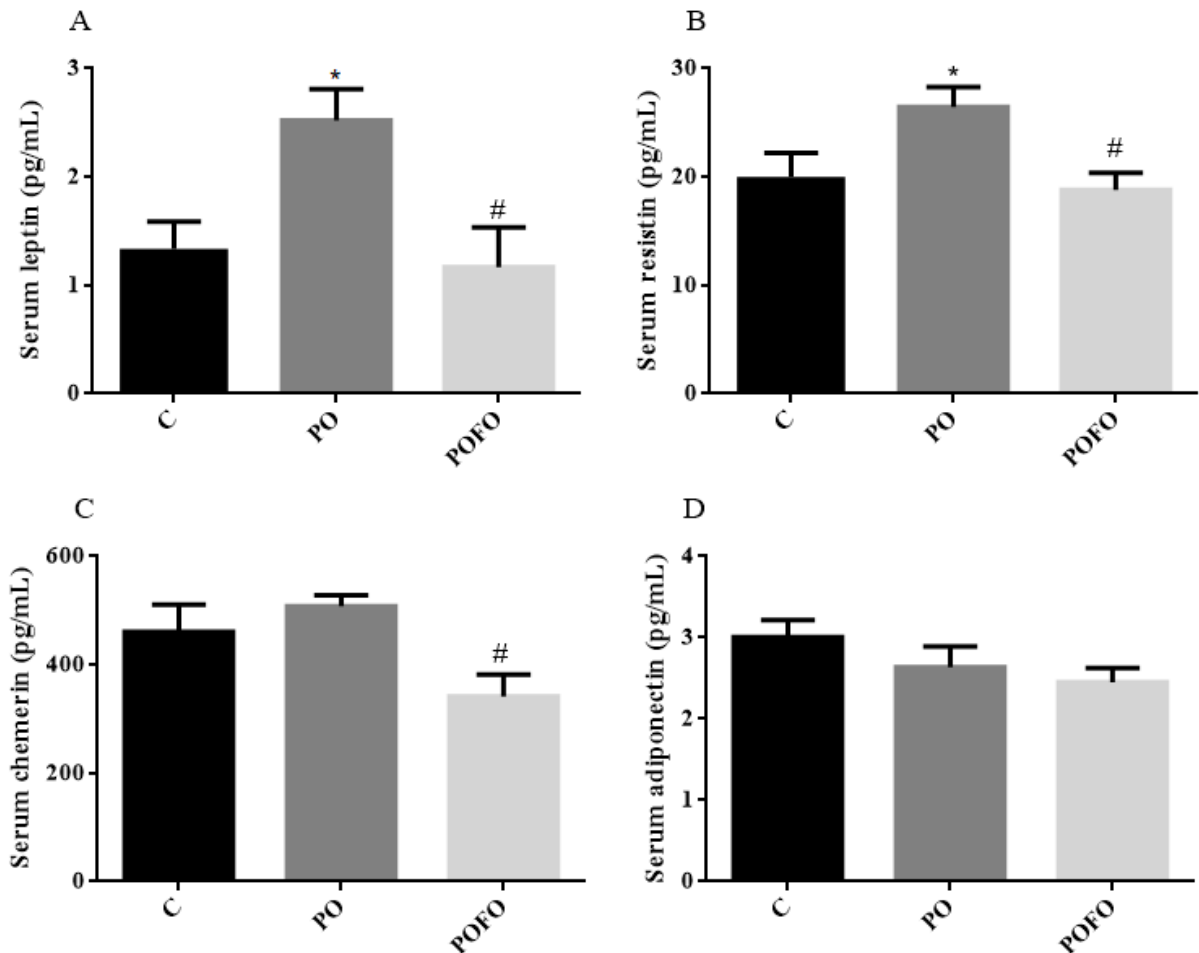
216 To further investigate glucose tolerance, we performed oral glucose tolerance test
 217 (OGTT) at 70 and 120 days of age. Maternal supplementation with FO did not improve
 218 glucose intolerance generated by the overfeeding model at 70 days of age, (POFO vs C p
 219 <0.0001) (Fig. 2.A). However, at 120 days of age, the FO was able to prevent glucose
 220 intolerance in POFO animals (POFO vs C $p>0.05$) (Fig. 2.B).



221 **Figure 2 - Glycemic curve (mmol/L) vs. time (min) from the oral glucose tolerance test**
 222 **(OGTT) and AUC obtained with the TTOG performed at 70 (A) and 120 (B) days of**
 223 **life of the animals.** Control (C, n = 8), Postnatal Overfeeding (PO, n = 8) and Postnatal
 224 **Overfeeding + Fish Oil supplementation (POFO, n = 14).** Data presented as mean \pm standard
 225 error of mean. *versus control group; #versus PO group.
 226
 227

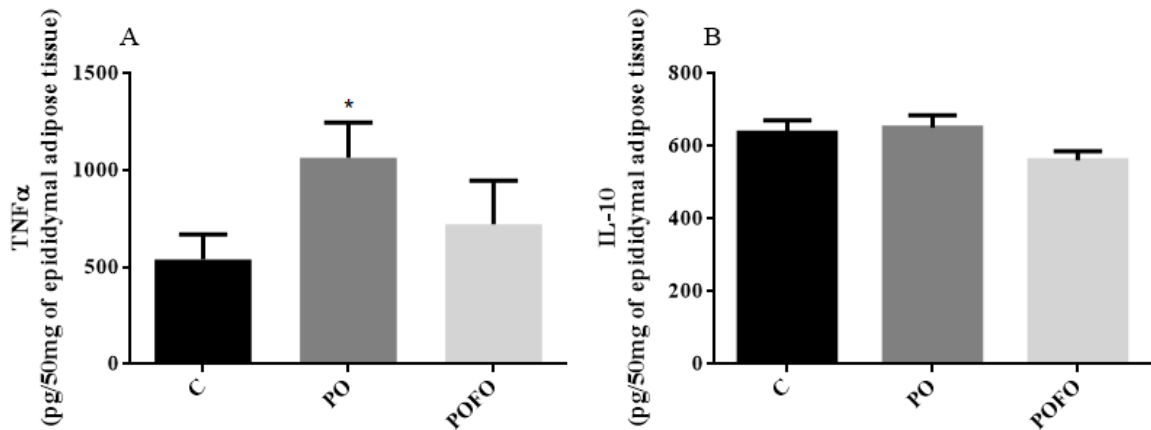
228 Higher levels of serum leptin and resistin was observed in the PO group in relation to
 229 the C ($p<0.05$ both), and lower values in the POFO group in relation to the PO group
 230 ($p<0.05$ both) (Fig. 3A and B). Chemerin level was lower in the POFO when compared to

231 the PO group ($p < 0.05$) (Fig. 3C). No difference was observed in serum adiponectin between
 232 groups ($p > 0.05$) (Fig. 3D).



233 **Figure 3 - Leptin (A), resistin (B), chemerin (C) and adiponectin (D) evaluated in the**
 234 **serum of the animals.** Control (C, n = 8), Postnatal Overfeeding (PO, n = 8) and Postnatal
 235 **Overfeeding + Fish Oil supplementation (POFO, n = 14).** Data presented as mean \pm standard
 236 error of mean. *versus control group; #versus PO group.
 237
 238

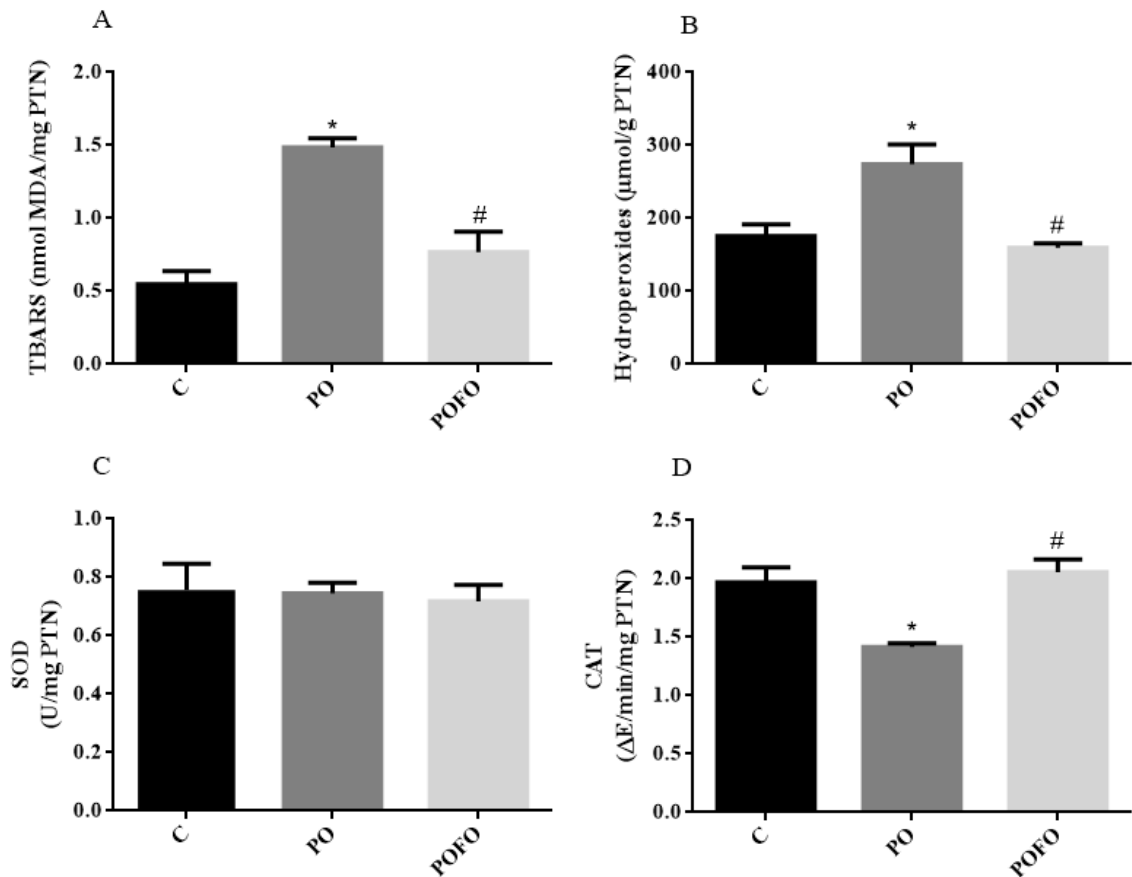
239 When we looked at the inflammatory response profile in epididymal adipose tissue,
 240 higher levels of TNF- α levels was seen in group PO compared to group C ($p < 0.05$) (Fig.
 241 4A). The anti-inflammatory cytokine IL-10 did not differ between the groups ($p > 0.05$) (Fig.
 242 4B).



243
 244 **Figure 4 - TNF- α (A) and IL-10 (B) evaluated in epididymal adipose tissue of the**
 245 **animals.** Control (C, n = 8), Postnatal Overfeeding (PO, n = 8) and Postnatal Overfeeding +
 246 Fish Oil supplementation (POFO, n = 14). Data presented as mean \pm standard error of mean.
 247 *versus control group

248

249 Analyzing oxidative stress markers in the liver, was observed that postnatal
 250 overfeeding increased the content of MDA (Fig. 5A) and hydroperoxides (Fig. 5B)
 251 ($p < 0.0001$ and $p < 0.01$ respectively) and fish oil reduced such parameter ($p < 0.001$ both). No
 252 significant difference was observed in SOD activity between the experimental groups
 253 ($p > 0.05$) (Fig. 6A). However, CAT activity was decreased in the liver of PO animals in
 254 relation to group C ($p < 0.01$) and FO was able to increased CAT activity (POFO vs PO
 255 $p < 0.05$) (Fig. 6B).



256
 257 **Figure 5 – Oxidative stress in liver. Determination of TBARS according to the**
 258 **concentration MDA (A), hydroperoxides according to the concentration of**
 259 **hydroperoxides (B) and activity of antioxidant enzymes SOD (C) and CAT (D) in the**
 260 **liver, normalized by protein concentration in the liver of the animals. Control (C, n = 8),**
 261 **Control + Fish Oil supplementation (CFO, n = 11), Postnatal Overfeeding (PO, n = 8) and**
 262 **Postnatal Overfeeding + Fish Oil supplementation (POFO, n = 14). Data presented as mean**
 263 **± standard error of mean. *versus control group; #versus PO group.**
 264

265 Discussion

266 We observed that postnatal overfeeding, induced by small litter size, causes an
 267 increase in body weight from the lactation phase to the adult life of the animals, consistent
 268 with previous studies [18–23]. As expected the higher body weight in the PO group was
 269 associated with higher weight of epididymal adipose tissue and elevated levels of leptin
 270 resistin and TNF- α in epididymal adipose tissue, being indicative of chronic inflammation
 271 [20,24–26]. As well as increased in total cholesterol and LDL-c [27], fasting glucose, unlike

272 previous reports [22,28], and a heaviest liver and more triglycerides content when compared
273 to control animals [29].

274 High adipokine levels increase intracellular oxidative stress, as evidenced by the
275 determination of TBARS and hydroperoxides, where there was an increase in lipid
276 peroxidation and ROS formation in the PO group, associated with lower CAT activity,
277 confirming previous reports [5,26]. These inflammatory and oxidative stress changes
278 contribute to increased glucose tolerance. The AUC analysis showed lower glucose
279 tolerance in overfeed animals at both 70 and 120 days of life, indicating that postnatal
280 overfeeding induces a certain degree of glucose intolerance and suggests a decline in insulin
281 sensitivity, consistent with the findings of Bei et al. [18].

282 Maternal FO supplementation shows a possible effect to prevent excessive weight
283 gain in early life, as well as to restore serum levels of leptin, but with no change in dietary
284 intake. Kasbi-Chadli et al. [30] observed similar results on body weight evaluating the
285 effect of ω -3 through gestational and lactation supplementation. FO supplementation was
286 effective in reducing serum concentrations of leptin, resistin and chemerin. Increased body
287 weight and insulin resistance may lead to desensitization of the leptin signal, leading to what
288 is known as leptin resistance. The anti-inflammatory properties of ω -3 supplementation can
289 improve leptin sensitivity and a corresponding decrease in their production [6]. The potential
290 of ω -3 to reduce expression, and possible destabilize transcription of the resistin gene has
291 been shown in vitro [31]. Little is known about dietary supplementation with ω -3 and its
292 effects on resistin, few clinical trials have observed no effect of ω -3 on the modulation of
293 this adipokine [32,33].

294 Chemerin is a chemoattractant protein, which is associated with obesity,
295 inflammation and atherosclerosis [34]. The action of chemerin on glucose and lipid
296 metabolism occurs in liver and adipose tissue, modulating secretion and insulin sensitivity,

297 promoting the regulation of glucose uptake, and stimulating lipolysis in adipocytes [35,36].
298 It has been previously described [31] an endogenous agonist-driven molecular mechanism
299 that underlie some of the beneficial effects of ω -3 EPA observed in many pathologies. This
300 EPA-derived lipid mediator binds to one of the three chemerin receptors (ChemR23) which
301 mediates its potent protective and anti-inflammatory actions. Another author [37] pointed
302 out the importance of researching for other substances that might affect the
303 chemerin/chemR23 axis and could be used in the future for the treatments of many diseases,
304 with this ω -3 arise as a possibility.

305 The lower serum of pro-inflammatory adipokine levels is associated with the effect
306 of FO supplementation in improving glucose tolerance in adult mice (120 days), once the
307 values of the POFO group became close to control group. Contrasting with our results,
308 Albert et al. [38], evaluating Sprague-Dawley rats supplemented with a daily dose of 82 mg
309 DHA and 30 mg EPA, from the first day of pregnancy until the of the offspring, found no
310 difference in glucose tolerance in offspring at 100 days of age. However, the dose of DHA
311 was lower and the animal strain was different of the present study, which may justify the
312 discrepancy of results. Previous study [30] report the action of ω -3 on the activation of the
313 insulin signaling pathway. Protein kinase C and GLUT4 may be affected by maternal
314 environment and during childhood, and may be involved in uptake of glucose in adult
315 offspring.

316 We observed that fish oil supplementation prevented the increased in serum levels of
317 total cholesterol, LDL-c and fasting glucose, evidencing an improvement in the lipidemic
318 and glycemic profiles. Previous studies also showed that offspring of animals supplemented
319 with ω -3 and fed with cafeteria diet [30,39] decreased fasting glucose. Improvement in the
320 lipid profile in POFO group was associated with the increase of HDL-c, a factor that can be
321 partly attributed to fish oil supplementation, since direct supplementation with ω -3 has the

322 capacity to increase the amount of larger particles (HDL), and lower the smaller ones (LDL).
323 It has been shown that ω -3 can increase cholesterol excretion in the form of bile acids and/or
324 increase LDL liver receptors, thereby reducing plasma and tissue concentrations [40].
325 However, Kasbi-Chadli et al. [30] did not observe significant differences in plasma VLDL,
326 LDL or HDL, differing from the results found in the present study. However, we did not
327 find effect of FO supplementation in hepatic lipids, although study of Sanchez-Blanco et al.
328 [41] using maternal supplementation with fish oil observed reduced lipid concentration in
329 the liver, as well as the hepatic triglycerides in 14 month, offspring of Sprague Dawley rats
330 fed a cafeteria diet.

331 Another protective effect of maternal supplementation with fish oil was observed in
332 liver damage caused by oxidative stress. Lower concentrations of MDA and hydroperoxides
333 were observed in POFO group in relation to the PO group, as well as the increase in CAT
334 activity, being similar to the animals in group C, suggesting that maternal nutritional
335 supplementation was able to reduce the damages of the postnatal overfeeding. Kasbi-Chadli
336 et al. [30], diverging from the present study, did not observe the effect of fish oil on MDA
337 concentration and glutathione peroxidase activity and plasma SOD in animals from
338 supplemented mothers fed with cafeteria diet. However, in a different model, where the
339 effect of fish oil on tumor-bearing rats was evaluated, Miyaguti, Oliveira & Gomes-
340 Marcondes [42] observed that maternal supplementation was able to reduce the hepatic
341 damage of oxidative stress caused by tumor.

342 The mechanism by which ω -3 indirect supplementation leads to an improvement in
343 metabolic and oxidative stress and inflammatory markers can be related to
344 metabolic/epigenetic programming effects during early life. Further studies are required to
345 address the effects of maternal supplementation with FO on gene expression and epigenetic
346 mechanisms.

347 **Conclusion**

348 According to our results, the postnatal overfeeding model was effective in inducing
349 weight gain as well as metabolic, inflammatory and oxidative stress alterations. Our data
350 promote the first evidence that maternal supplementation with fish oil exerts an attenuating
351 effect of postnatal overfeeding-related metabolic disorders.

352

353 **Acknowledgments**

354 The authors would like to thank the UFMG Immunometabolism Research Group for
355 partnering and conducting adipokine analyzes, our undergraduate students, and our
356 laboratory technician for assistance in animal care and laboratory analysis. They also thank
357 Capes (Ministry of Education, Brazil), FAPEMIG (Minas Gerais, Brazil), CNPq and UFLA
358 for their financial support to this project.

359

360 **References**

- 361 1. Media centre Obesity and overweight Fact sheet N°311 [Internet]. [cited 2019 Jul 17].
362 Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
- 363 2. Després J-P. Abdominal Obesity and Cardiovascular Disease: Is Inflammation the
364 Missing Link? *Can J Cardiol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2019 Jul 17];28(6):642–52.
365 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22889821>
- 366 3. Hanley B, Dijane J, Fewtrell M, Grynberg A, Hummel S, Junien C, et al. Metabolic
367 imprinting, programming and epigenetics – a review of present priorities and future
368 opportunities. *Br J Nutr* [Internet]. 2010 Jul 1 [cited 2019 Jul 17];104(S1):S1–25.
369 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20929595>
- 370 4. Xiao XQ, Williams SM, Grayson BE, Glavas MM, Cowley MA, Smith MS, et al.
371 Excess Weight Gain during the Early Postnatal Period Is Associated with Permanent
372 Reprogramming of Brown Adipose Tissue Adaptive Thermogenesis. *Endocrinology*
373 [Internet]. 2007 Sep [cited 2019 Jul 17];148(9):4150–9. Available from:
374 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17525123>
- 375 5. Habbout A, Delemasure S, Goirand F, Guillard J-C, Chabod F, Sediki M, et al.

- 376 Postnatal overfeeding in rats leads to moderate overweight and to cardiometabolic and
377 oxidative alterations in adulthood. *Biochimie* [Internet]. 2012 Jan [cited 2019 Jul
378 17];94(1):117–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21978927>
- 379 6. Lombardo YB, Chicco AG. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on
380 dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *J Nutr Biochem*
381 [Internet]. 2006 Jan [cited 2019 Jul 17];17(1):1–13. Available from:
382 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16214332>
- 383 7. Albracht-Schulte K, Kalupahana NS, Ramalingam L, Wang S, Rahman SM, Robert-
384 McComb J, et al. Omega-3 fatty acids in obesity and metabolic syndrome: a
385 mechanistic update. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2018 Aug [cited 2019 Jul 17];58:1–16.
386 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29621669>
- 387 8. Borsonelo EC, Galduróz JCF. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in
388 development, aging and substance abuse disorders: Review and propositions.
389 *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids* [Internet]. 2008 Apr [cited 2019 Jul 17];78(4–
390 5):237–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18502631>
- 391 9. Poulsen L la C, Siersbæk M, Mandrup S. PPARs: Fatty acid sensors controlling
392 metabolism. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2012 Aug [cited 2019 Jul 17];23(6):631–
393 9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22273692>
- 394 10. Berger J, Moller DE. The Mechanisms of Action of PPARs. *Annu Rev Med* [Internet].
395 2002 Feb 28 [cited 2019 Oct 10];53(1):409–35. Available from:
396 <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.med.53.082901.104018>
- 397 11. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-
398 density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.
399 *Clin Chem* [Internet]. 1972 Jun [cited 2019 Jul 17];18(6):499–502. Available from:
400 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4337382>
- 401 12. FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY GH. A simple method for the isolation and
402 purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* [Internet]. 1957 May
403 [cited 2019 Jul 17];226(1):497–509. Available from:
404 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13428781>
- 405 13. Wallin B, Rosengren B, Shertzer HG, Camejo G. Lipoprotein Oxidation and
406 Measurement of Thiobarbituric Acid Reacting Substances Formation in a Single
407 Microtiter Plate: Its Use for Evaluation of Antioxidants. *Anal Biochem* [Internet]. 1993
408 Jan [cited 2019 Jul 17];208(1):10–5. Available from:
409 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8434778>
- 410 14. Correspondence S, Banerjee D, Kumar PA, Kumar B, Madhusoodanan UK, Nayak S,
411 et al. Determination of absolute hydrogen peroxide concentration by
412 spectrophotometric method. *Curr Sci* [Internet]. 2002 [cited 2019 Jul 17];83(10):1193–
413 4. Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/Determination-of-absolute-hydrogen-peroxide-by/4e7e5317927c9278ba88f2225874738e4744dfc6>
- 414
415 15. Bradford M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram
416 Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Biochem*
417 [Internet]. 1976 May 7 [cited 2019 Jul 17];72(1–2):248–54. Available from:
418 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/942051>
- 419 16. Bannister J V., Calabrese L. Assays for Superoxide Dismutase. In 2006 [cited 2019 Jul
420 17]. p. 279–312. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470110539.ch5>

- 421 17. Aebi H. [13] Catalase in vitro. *Methods Enzymol* [Internet]. 1984 Jan 1 [cited 2019 Jul
422 17];105:121–6. Available from:
423 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687984050163>
- 424 18. Bei F, Jia J, Jia YQ, Sun JH, Liang F, Yu ZY, et al. Long-term effect of early postnatal
425 overnutrition on insulin resistance and serum fatty acid profiles in male rats. *Lipids*
426 *Health Dis* [Internet]. 2015 [cited 2019 Jun 26];14(1). Available from:
427 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4549095/pdf/12944_2015_Article_94.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4549095/pdf/12944_2015_Article_94.pdf)
428 [pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4549095/pdf/12944_2015_Article_94.pdf)
- 429 19. Liu H-W, Mahmood S, Srinivasan M, Smiraglia DJ, Patel MS. Developmental
430 programming in skeletal muscle in response to overnourishment in the immediate
431 postnatal life in rats. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2013 Nov [cited 2019 Jul
432 17];24(11):1859–69. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23968580>
- 433 20. Boullu-Ciocca S, Achard V, Tassistro V, Dutour A, Grino M. Postnatal Programming
434 of Glucocorticoid Metabolism in Rats Modulates High-Fat Diet–Induced Regulation of
435 Visceral Adipose Tissue Glucocorticoid Exposure and Sensitivity and Adiponectin and
436 Proinflammatory Adipokines Gene Expression in Adulthood. *Diabetes* [Internet]. 2008
437 Mar [cited 2019 Jul 17];57(3):669–77. Available from:
438 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18057089>
- 439 21. Fiorotto ML, Burrin DG, Perez M, Reeds PJ. Intake and use of milk nutrients by rat
440 pups suckled in small, medium, or large litters. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*
441 [Internet]. 1991 Jun [cited 2019 Jul 17];260(6):R1104–13. Available from:
442 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2058738>
- 443 22. Hou M, Liu Y, Zhu L, Sun B, Guo M, Burén J, et al. Neonatal Overfeeding Induced by
444 Small Litter Rearing Causes Altered Glucocorticoid Metabolism in Rats. Dahlman IA,
445 editor. *PLoS One* [Internet]. 2011 Nov 4 [cited 2019 Jul 17];6(11):e25726. Available
446 from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0025726>
- 447 23. Conceição EPS, Trevenzoli IH, Oliveira E, Franco JG, Carlos AS, Nascimento-Saba
448 CCA, et al. Higher White Adipocyte Area and Lower Leptin Production in Adult Rats
449 Overfed During Lactation. *Horm Metab Res* [Internet]. 2011 Jun 21 [cited 2019 Jul
450 17];43(07):513–6. Available from: [http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-](http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0031-1275702)
451 [0031-1275702](http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0031-1275702)
- 452 24. Rodrigues AL, de Moura EG, Passos MCF, Trevenzoli IH, da Conceição EPS, Bonono
453 IT, et al. Postnatal early overfeeding induces hypothalamic higher SOCS3 expression
454 and lower STAT3 activity in adult rats. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2011 Feb [cited
455 2019 Jul 17];22(2):109–17. Available from:
456 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20303731>
- 457 25. Rodrigues AL, De Moura EG, Fonseca Passos MC, Potente Dutra SC, Lisboa PC.
458 Postnatal early overnutrition changes the leptin signalling pathway in the
459 hypothalamic-pituitary-thyroid axis of young and adult rats. *J Physiol* [Internet]. 2009
460 Jun 1 [cited 2019 Jul 17];587(11):2647–61. Available from:
461 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19403617>
- 462 26. Conceição EPS, Franco JG, Oliveira E, Resende AC, Amaral TAS, Peixoto-Silva N, et
463 al. Oxidative stress programming in a rat model of postnatal early overnutrition — role
464 of insulin resistance. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2013 Jan [cited 2019 Jul 17];24(1):81–
465 7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22819562>
- 466 27. Rinaldi W, Ribeiro TA da S, Marques AS, Fabricio GS, Tófolo LP, Gomes RM, et al.

- 467 Efeito da redução de ninhada sobre as respostas autonômicas e metabólicas de ratos
468 Wistar. *Rev Nutr* [Internet]. 2012 Jun [cited 2019 Jul 17];25(3):321–30. Available
469 from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-
470 52732012000300002&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732012000300002&lng=pt&tlng=pt)
- 471 28. Ye Z, Huang Y, Liu D, Chen X, Wang D, Huang D, et al. Obesity Induced by Neonatal
472 Overfeeding Worsens Airway Hyperresponsiveness and Inflammation. Thatcher TH,
473 editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Oct 8 [cited 2019 Jul 7];7(10):e47013. Available
474 from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0047013>
- 475 29. Ji C, Dai Y, Jiang W, Liu J, Hou M, Wang J, et al. Postnatal overfeeding promotes
476 early onset and exaggeration of high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease
477 through disordered hepatic lipid metabolism in rats. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2014
478 Nov [cited 2019 Jul 17];25(11):1108–16. Available from:
479 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25154569>
- 480 30. Kasbi-Chadli F, Boquien C-Y, Simard G, Ulmann L, Mimouni V, Leray V, et al.
481 Maternal supplementation with n-3 long chain polyunsaturated fatty acids during
482 perinatal period alleviates the metabolic syndrome disturbances in adult hamster pups
483 fed a high-fat diet after weaning. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2014 Jul [cited 2019 Jul
484 17];25(7):726–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24767307>
- 485 31. Arita M, Bianchini F, Aliberti J, Sher A, Chiang N, Hong S, et al. Stereochemical
486 assignment, antiinflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator
487 resolvin E1. *J Exp Med* [Internet]. 2005 Mar 7 [cited 2019 Jul 7];201(5):713–22.
488 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15753205>
- 489 32. Mostowik M, Gajos G, Zalewski J, Nessler J, Undas A. Omega-3 Polyunsaturated
490 Fatty Acids Increase Plasma Adiponectin to Leptin Ratio in Stable Coronary Artery
491 Disease. [cited 2019 Jul 7]; Available from:
492 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3709088/pdf/10557_2013_Article_64
493 57.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3709088/pdf/10557_2013_Article_6457.pdf)
- 494 33. Spencer M, Finlin BS, Unal R, Zhu B, Morris AJ, Shipp LR, et al. Omega-3 Fatty
495 Acids Reduce Adipose Tissue Macrophages in Human Subjects With Insulin
496 Resistance. [cited 2019 Jul 7]; Available from:
497 <https://diabetes.diabetesjournals.org/content/diabetes/62/5/1709.full.pdf>
- 498 34. Cash JL, Norling L V., Perretti M. Resolution of inflammation: targeting GPCRs that
499 interact with lipids and peptides. *Drug Discov Today* [Internet]. 2014 Aug 1 [cited
500 2019 Jul 7];19(8):1186–92. Available from:
501 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135964461400258X>
- 502 35. Roman AA, Parlee SD, Sinal CJ. Chemerin: a potential endocrine link between obesity
503 and type 2 diabetes. *Endocrine* [Internet]. 2012 Oct 19 [cited 2019 Jul 17];42(2):243–
504 51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22610747>
- 505 36. Verrijn Stuart AA, Schipper HS, Tasdelen I, Egan DA, Prakken BJ, Kalkhoven E, et al.
506 Altered Plasma Adipokine Levels and *in Vitro* Adipocyte Differentiation in Pediatric
507 Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2012 Feb [cited 2019 Jul
508 17];97(2):463–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22112811>
- 509 37. Mariani F, Roncucci L. Chemerin/chemR23 axis in inflammation onset and resolution.
510 *Inflamm Res* [Internet]. 2015 Feb [cited 2019 Jul 7];64(2):85–95. Available from:
511 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25548799>
- 512 38. Albert BB, Vickers MH, Gray C, Reynolds CM, Segovia SA, Derraik JGB, et al. Fish

- 513 oil supplementation to rats fed high-fat diet during pregnancy prevents development of
514 impaired insulin sensitivity in male adult offspring. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 17
515 [cited 2019 Jul 17];7(1):5595. Available from:
516 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28717143>
- 517 39. Ferramosca A, Conte A, Burri L, Berge K, De Nuccio F, Giudetti AM, et al. A Krill
518 Oil Supplemented Diet Suppresses Hepatic Steatosis in High-Fat Fed Rats. Aguila MB,
519 editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jun 7 [cited 2019 Jul 17];7(6):e38797. Available
520 from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22685607>
- 521 40. Morgan AE, Mooney KM, Wilkinson SJ, Pickles NA, Mc Auley MT. Cholesterol
522 metabolism: A review of how ageing disrupts the biological mechanisms responsible
523 for its regulation. *Ageing Res Rev* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2019 Jul 7];27:108–
524 24. Available from:
525 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568163716300332>
- 526 41. Sánchez-Blanco C, Amusquivar E, Bispo K, Herrera E. Dietary fish oil
527 supplementation during early pregnancy in rats on a cafeteria-diet prevents fatty liver
528 in adult male offspring. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2019 Jan [cited 2019 Jul
529 17];123:546–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30543894>
- 530 42. Miyaguti NA da S, de Oliveira SCP, Gomes-Marcondes MCC. Maternal nutritional
531 supplementation with fish oil and/or leucine improves hepatic function and antioxidant
532 defenses, and minimizes cachexia indexes in Walker-256 tumor-bearing rats offspring.
533 *Nutr Res* [Internet]. 2018 Mar [cited 2019 Jul 17];51:29–39. Available from:
534 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29673542>
- 535

ANEXO A

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Cx.P.3037 - Lavras – MG – 37200-000 – (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Investigação do óleo de peixe na modulação de parâmetros metabólicos, inflamatórios e teciduais em modelo de obesidade por hiperalimentação pós-natal em camundongos C57BL6", protocolo nº 002/18, sob a responsabilidade de Laura Cristina Jardim Pôrto Pimenta, Isabela Coelho de Castro, Isabela Queiroz Perígolo Lopes, Érika da Silva Rosa, Gláucia Ferreira Andrade Vilas Boas e Vânia Chaves de Figueiredo, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de ensino e/ou pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas edificadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFLA, em reunião de 14/03/2018.

Vigência da autorização: de 01/04/2018 a 31/12/2021

Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica

Espécie/linhagem/raça: Camundongo isogênico / C57BL6

Número de animais aprovados: 40

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

Sexo: macho e fêmea

Origem dos animais (documento apresentado pelo pesquisador responsável e arquivado pela CEUA): Biotério Central Multiusuário da UFLA - Chefe: Thales Augusto Barçante - Coordenadora: Profª Christiane Malfitano



Prof. Juliano Vogas Peixoto
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

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