



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

FILIPHE DE PAULA NUNES MESQUITA

**REPERCUSSÕES DO EXCESSO DE GLICOCORTICOIDES NA PREENHEZ SOBRE
O METABOLISMO LIPÍDICO MATERNO DURANTE O PERIPARTO**

CAMPINAS

2022

FILIPHE DE PAULA NUNES MESQUITA

**REPERCUSSÕES DO EXCESSO DE GLICOCORTICOIDES NA PREENHEZ SOBRE
O METABOLISMO LIPÍDICO MATERNO DURANTE O PERIPARTO**

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para obtenção do título de doutor em farmacologia

ORIENTADORA: PROF^a DR^a SILVANA AUXILIADORA BORDIN DA SILVA

COORIENTADOR: PROF. DR. GABRIEL FORATO ANHÊ

ESTE TRABALHO CORRESPONDE A VERSÃO FINAL
DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO FILIPHE DE
PAULA NUNES MESQUITA E ORIENTADA PELA
PROF^a DR^a SILVANA AUXILIADORA BORDIN DA
SILVA

CAMPINAS

2022

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências
Médicas Maristella Soares dos
Santos - CRB 8/8402

M562r Mesquita, Filipe de Paula Nunes, 1987-
Repercussões do excesso de glicocorticoides na prenhez
sobre o metabolismo lipídico materno durante o periparto
/ Filipe de Paula Nunes Mesquita. – Campinas, SP : [s.n.],
2022.

Orientador: Silvana Auxiliadora Bordin da Silva.
Coorientador: Gabriel Forato Anhô.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Gestação. 2. Lactação. 3. Metabolismo. 4.
Dexametasona. 5. Lipídeos. I. Bordin, Silvana, 1962-. II.
Anhô, Gabriel Forato, 1980-. III. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Repercussions of excess glucocorticoids
during pregnancy on maternal lipid metabolism during the peripartum

Palavras-chave em inglês:

Pregnancy
Lactation
Metabolism
Dexamethasone
Lipids

Área de concentração:

Farmacologia

Titulação: Doutor em
Farmacologia **Banca**

examinadora:

Silvana Auxiliadora Bordin da Silva [Orientador]
Edson Antunes
Marcio Alberto Torsoni
Camilo de Lellis Santos
Fernanda Ortis

Data de defesa: 20-12-2022

Programa de Pós-Graduação: Farmacologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

-ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-7960-3124>

-Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8502467819319980>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

FILIPHE DE PAULA NUNES MESQUITA

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. SILVANA AUXILIADORA BORDIN DA SILVA

COORIENTADOR: PROF. DR. GABRIEL FORATO ANHÊ

MEMBROS:

1. PROF^a. DR^a. SILVANA AUXILIADORA BORDIN DA SILVA

2. PROF. DR. EDSON ANTUNES

3. PROF. DR. MARCIO ALBERTO TORSONI

4. PROF^a. DR. CAMILO DE LELLIS SANTOS

5. PROF^a. DR^a. FERNANDA ORTIS

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no
SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 20/12/2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, autor e consumidor da minha fé, por ter me mostrado na prática que a dependência Nele é sempre melhor e mais surpreendente.

À minha esposa Ruth Pereira Mesquita, por ter me incentivado, amado e suportado esses anos. Te amo gata.

À minha família em Natal, por mais uma vez ter renunciado à minha presença em prol do meu crescimento e qualificação. Amo vcs João, Damáres, Thiago, Théo e Laika.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Silvana Auxiliadora Bordin da Silva, por confiar em mim, ter tido muita paciência e me mostrar que o meio acadêmico é lugar de grandes mentes, mas também de grandes corações.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Gabriel Forato Anhô, por ter aberto as portas do seu laboratório para mim, pelos ensinamentos e discussões relevantes.

Aos meus colegas do laboratório da Unicamp, Dailson Nogueira, Rodrigo Lacerda, Vanessa Veronesi e Junia Carolina, pela amizade, ensinamentos, risadas e por compartilharem os momentos gratificantes e sofridos desta trajetória.

Aos meus colegas de laboratório da Usp, Gil Murata, Thanyara e Fhrancielly pelo carinho que me receberam e pela paciência e ajuda destinados a mim.

A todos os funcionários dos departamentos de Farmacologia- UNICAMP e Fisiologia- USP pela ajuda e disposição ensinar a rotina.

A cada amigo e familiar que orou por mim durante esta trajetória, a lista seria muito extensa.

Por último, mas não menos importante, agradeço a cada animal utilizado neste trabalho, cada vida utilizada com muito respeito e de forma singular.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

RESUMO

Sabe-se que a gestação é um processo fisiológico complexo onde ocorrem muitas mudanças físicas, endócrinas, comportamentais e metabólicas no corpo da fêmea, visando a preparação do organismo para desenvolver o embrião. Posteriormente à gestação, a lactação continua a causar mudanças no organismo para favorecer a produção de leite e conseqüentemente a nutrição do recém-nascido. O uso de corticoides, não raras vezes, é requerido para ajudar fêmeas em risco de partos prematuros. Porém, essas drogas não são desprovidas de efeitos colaterais na mãe e nem nos filhotes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da administração de corticoideterapia no metabolismo lipídico de ratas no terço final da gestação. As ratas foram separadas em 3 grupos: um grupo controle (não gestantes/lactantes), um grupo gestante que recebeu dexametasona e um grupo gestante que não recebeu dexametasona. Foram analisados parâmetros como a evolução de peso durante a lactação, dosagem de triglicerídeos e colesterol no sangue, fígado, tecido mamário e leite. Foi aferida também a glicemia dos animais e estudados genes envolvidos no metabolismo lipídico pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Realizou-se testes de produção de VLDL e de absorção de gordura e cromatografia da glândula mamaria e fígado. Na prole foram averiguadas as concentrações de triglicerídeos, colesterol e o ganho de peso. Os resultados deste trabalho indicam que há aumento dos níveis sanguíneos de triglicerídeos e colesterol nos animais que receberam o tratamento com dexametasona em relação aos outros grupos, bem como há uma menor expressão gênica de LPL, ACC e FASN na glândula mamaria dos animais tratados com dexametasona, o que favorece menores concentrações de triglicerídeos no leite dos animais deste grupo. Pode-se concluir então que a dexametasona influencia o processo de lactação e chegada de gordura no leite.

Palavras-chaves: gestação; lactação; metabolismo; dexametasona; lipídeos.

ABSTRACT

It is known that pregnancy is a complex physiological process where many physical, endocrine, behavioral and metabolic changes occur in the female's body, where the main objective is to prepare the organism to be able to develop the embryo. After pregnancy, lactation continues to cause changes in the body to favor milk production and, consequently, the nutrition of the newborn. The use of corticosteroids, not infrequently, is required to help females at risk of premature births. However, these drugs are not devoid of side effects in the mother or puppies. The objective of this study was to evaluate the impact of corticosteroid administration on lipid metabolism in rats in the final third of pregnancy. For this, the rats were divided into 3 groups: a control group (non-pregnant/lactating), a pregnant group that received dexamethasone and a pregnant group that did not receive dexamethasone. Parameters such as weight evolution during lactation, triglycerides and cholesterol levels in blood, liver, breast tissue and milk were analyzed. The blood glucose of the animals was also measured. Genes that are involved in lipid metabolism during lactation through the Polymerase Chain Reaction (PCR) were studied. In addition, tests of VLDL production and fat absorption were performed in order to evaluate the role of the liver in the energy shift to the mammary gland. Finally, mammary gland and liver chromatography were performed. In the offspring, the concentrations of triglycerides, cholesterol and weight gain were investigated. The results of this work indicate that there is an increase in blood levels of triglycerides and cholesterol in animals that received treatment with dexamethasone in relation to other groups, as well as a lower gene expression of LPL, ACC and FASN in the mammary gland of animals treated with dexamethasone, which favors lower concentrations of triglycerides in the milk of animals in this group. It can be concluded then that dexamethasone influences the process of lactation and the arrival of fat in milk.

Keywords: pregnancy; lactation; metabolism; dexamethasone; lipids.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|--------------------|--|----|
| Figura 1 - | Estrutura dos corticosteroides naturais e sintéticos | 19 |
| Figura 2 - | Efeitos do tratamento com DEX ou veículo em triglicerídeo (TG), colesterol (CHOL) e glicemia circulante..... | 35 |
| Figura 3 - | Evolução ponderal do peso de ratas lactantes entre o 3° e 21° dia de lactação..... | 36 |
| Figura 4 - | Efeitos do tratamento com DEX ou veículo em triglicerídeo (TG), colesterol (CHOL) e ganho de peso entre o 3° e 21° dia de lactação na prole..... | 37 |
| Figura 5 - | Efeitos do tratamento com DEX ou veículo em triglicerídeo e colesterol no tecido mamário e leite..... | 38 |
| Figura 6 - | Efeitos do tratamento com DEX ou Veículo em desafio com teste de tyloxapol..... | 39 |
| Figura 7 - | Efeitos do tratamento com DEX ou Veículo em desafio com teste de Azeite..... | 40 |
| Figura 8 - | Efeitos do tratamento com DEX ou veículo na expressão de genes relacionados à síntese de TG e montagem e secreção de VLDL na glândula mamária..... | 42 |
| Figura 9 - | Efeitos do tratamento com DEX (n = 8) ou veículo (n = 8) em triglicerídeo (TG) e colesterol (CHOL) hepático..... | 43 |
| Figura 10 - | Efeitos do tratamento com DEX ou veículo na expressão de genes relacionados à síntese de TG e montagem e secreção de VLDL no fígado..... | 44 |
| Figura 11 - | Cromatografia de tecido hepático e mamário..... | 46 |
| Figura 12 - | Análise da temperatura do tecido adiposo marrom, glândula mamária e perda de calor pela cauda..... | 66 |

**Figura 13 - Análise da temperatura corporal de ratas lactantes com
câmera térmica**

..... 67

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Tabela 1 - | Teores de ácidos graxos em tecido hepático e mamário de ratas lactantes | |
| | | 47 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------------------|--|
| ACC | Acetil-coa carboxilase |
| ACTH | Hormonio adrenocorticotrófico |
| ApoB | Apolipoprotéina B |
| CA ²⁺ | Cálcio |
| CD36 | Codificador de proteínas 36 |
| cDNA | Ácido dexossirribonucléico complementar |
| CEUA | Comissão de ética no uso animal |
| CIDEA | Fator ativador de morte celular do subtipo A |
| CIDEB | Fator ativador de morte celular do subtipo B |
| CO ₂ | Dióxido de carbono |
| COBEA | Colégio Brasileiro de Experimentação Animal |
| CRH | Hormonio liberador de corticotrofina |
| CTL | Controle |
| DEX | Dexametasona |
| DGAT2 | Diacilglicerol O-aciltransferase 2 |
| E.P.M | Erro padrao de média |
| FASN | Ácido graxo sintase |
| FBP1 | Frutose-1,6-bisfosfatase |
| FDA | Food and drug administration |
| g | Gramas |
| H ⁺ | Íon hidrogênio |
| I.P | Intra peritoneal |
| I.V | Intra venoso |
| K ⁺ | Potássio |
| Kg | Quilograma |
| LD | Lactante dexametasona |
| LPL | Lipase lipoproteica |
| LV | Lactante Veículo |
| ME1 | Enzima málica tipo 1 |
| Mg | Miligramas |
| MIN | Minutos |
| MI | Mililitros |
| mM | Mili molar |
| MTTP | Proteína microssomal de transferência de triglicerídeo |
| NA ⁺ | Sódio |
| NACL | Cloreto de sódio |
| PCR | Reação em cadeia da polimerase |
| PEPCK | Fosfoenolpiruvato carboxiquinase |
| RNA | Ácido ribonucleico |
| RNAm | Ácido ribonucleico mensageiro |
| RPL37a | Proteína ribossomal I37a |
| RPM | Rotações por minuto |
| SC | Subcutâneo |

| | |
|---------|--|
| Sec22 | Proteína de tráfico de vesículas SeC22 |
| SECD | Subunidade de proteína translocase D |
| TG | Triglicerídeo |
| UI | Unidades internacionais |
| UNICAMP | Universidade Estadual de Campinas |
| VLDL | Lipoproteína de muito baixa densidade (Very Low Density Lipoprotein) |
| V.O | Via oral |
| µG | Micro gramas |
| µL | Micro litros |

SUMÁRIO

| | |
|---|--------------------------------------|
| 1. INTRODUÇÃO | <i>Erro! Indicador não definido.</i> |
| 1.1 Alterações gerais no período gestacional | 15 |
| 1.2 Físio-farmacologia dos Corticosteroides | 17 |
| 1.3 – Corticoides e gestação | 22 |
| 2. OBJETIVOS | 24 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 25 |
| 3.1 – Animais e desenho experimental | 25 |
| 3.2 - Tratamento com dexametasona | 25 |
| 3.3 – Pesagem dos animais..... | 26 |
| 3.4 - Análises bioquímicas | 26 |
| 3.5 – Quantificação de Triglicérides e colesterol em tecidos | 26 |
| 3.6 – Quantificação de Triglicérides e colesterol no leite | 26 |
| 3.7 - Dosagem de glicemia com kits de tiras-teste | 27 |
| 3.8 - Teste de produção de VLDL (Teste do Tyloxapol) | 27 |
| 3.9 - Teste de absorção de gordura | 28 |
| 3.10 – Extração de RNA | 28 |
| 3.11 – Análise da expressão gênica (qPCR)..... | 28 |
| 3.12 - Cromatografia da glândula mamária e fígado | 30 |
| 3.13 - Análise estatística..... | 31 |
| 4. RESULTADOS | 32 |
| 4.1 – Efeito da exposição a glicocorticoides no perfil metabólico e glicêmico | 32 |
| 4.2- Evolução ponderal do peso..... | 34 |
| 4.3 – Perfil lipídico e evolução ponderal do peso da prole | 35 |
| 4.4 – Perfil lipídico do tecido mamário e do leite..... | 36 |
| 4.5 - Teste de produção de VLDL (Teste do Tyloxapol) | 37 |
| 4.6 - Teste de tolerância à sobrecarga oral de ácidos graxos | 38 |
| 4.7 - Expressão gênica em tecido mamário..... | 39 |
| 4.8 - Perfil lipídico do tecido hepático | 41 |
| 4.9 – Expressão gênica em tecido hepático | 42 |
| 4.10 – Cromatograma de glândula mamária e fígado | 43 |

| | |
|----------------------------|------------|
| 5 - DISCUSSÃO | 46 |
| 6- CONCLUSÃO | 55 |
| 7- REFERÊNCIAS..... | 56 |
| 8 – APÊNDICES..... | 64 |
| 9- ANEXOS..... | 112 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Alterações gerais no período gestacional

A gravidez é caracterizada como sendo o período de gestação de uma fêmea e pode variar de forma significativa entre as espécies, no que diz respeito ao tempo. Porém, em todas as espécies sabe-se que durante o período gestacional ocorrem diversas mudanças anatômicas e fisiológicas na fêmea a fim de suprir suas necessidades metabólicas, bem como as necessidades do feto (1).

No primeiro período gestacional, essas mudanças resultam no armazenamento de energia, visto que o consumo energético do feto é baixo. Por isso um comportamento comum é o aumento da ingestão de alimentos e a consequente deposição de moléculas energéticas, como o triacilglicerol (TG) no tecido adiposo (2).

A partir do segundo período gestacional, o feto começa aumentar de tamanho e passa a exercer um consumo maior de energia até o final do período gestacional. Isso acontece, pois, todas as estruturas estão praticamente formadas, precisando agora desenvolver seu tamanho a fim de garantir e viabilizar o crescimento do feto (3).

As mudanças na mãe atingem os mais variados sistemas. No sistema cardiovascular, as mudanças ocorrem devido principalmente a ação dos hormônios progesterona e estrógeno. Observa-se, a partir da oitava semana de gestação, uma diminuição da resistência vascular sistêmica, aumento da frequência cardíaca e aumento do volume sistólico, podendo levar a alterações pressóricas. (3,4).

O aumento do volume sanguíneo circulante que se nota nas fêmeas gestantes é de suma importância, pois tem relação direta com desenvolvimento fetal, bem como seu peso ao nascer. Além disso, o aumento na produção de hemácias (eritropoiese) melhora a oxigenação e exige também um aumento no consumo de ferro por parte da gestante. (5)

O sistema respiratório também passa por mudanças significativas devido a ação do estrógeno, que aumenta o fluxo sanguíneo de capilares da mucosa nasal, faríngea e

laríngea (6). Este hormônio também provoca aumento da circunferência da parede torácica (3). Já a progesterona sensibiliza os quimiorreceptores ao dióxido de carbono (CO_2), favorecendo sua eliminação e funcionando como um estimulante para esse sistema (7). Outras alterações relacionadas ao sistema respiratório e de suma importância estão relacionadas ao aumento da frequência respiratória e diminuição significativa do volume respiratório residual (8).

No sistema digestório a absorção dos nutrientes não é muito afetada, porém o peristaltismo sim. A progesterona causa relaxamento do esfíncter esofágico inferior, facilitando episódios de refluxo gastresofágico (9). Pode haver constipação devido a ação inibitória da progesterona sobre o peristaltismo gastrointestinal. Ademais, sintomas como náuseas e vômitos também são comumente relatados por gestantes (10).

No sistema nervoso central pode-se observar uma ação maior do sistema simpático, atuando sobre a hemodinâmica. Ocorre aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica e aumento do limiar de resistência a dor, que será muito útil na hora do parto. (11).

O fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular aumentam, porém histologicamente não se observa aumento no número de néfrons. Poliúria, infecções urinárias, incontinência urinária e noctúria são comumente relatadas, diminuindo gradativamente e normalizando por volta de 6-8 meses no período pós-parto (1). As alterações circulatórias renais favorecem conseqüentemente aumento do tamanho e peso dos rins (12).

As ações hormonais acompanhadas de ganho de peso acabam causando algumas alterações no sistema musculoesquelético. Uma das características mais marcantes é o relaxamento ou frouxidão articular que ajuda na hora parto, que se deve por ação da relaxina e progesterona. (13).

Todas essas mudanças descritas, que ocorrem em mamíferos, favorecem uma gestação segura para a mãe e para o feto, garantindo o desenvolvimento adequado e

melhor adaptação no pós-parto. Ocorrem ainda alterações significativas no sistema endócrino e no metabolismo energético.

1.2 Fisiologia-farmacologia dos Corticosteroides

Os corticosteroides ou corticoides são hormônios endógenos sintetizados pelo organismo principalmente a partir do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal. O termo corticosteroide serve tanto para referir-se a glicocorticoide quanto para mineralocorticoide, porém de uma forma mais usual é utilizado como sinônimo de glicocorticoide (14). Podem ser divididos em corticoides endógenos e sintéticos, possuindo baixo peso molecular. Tanto os corticoides endógenos quanto exógenos possuem estrutura química semelhante, sendo constituídos por 21 carbonos, contendo 4 anéis, sendo 3 anéis de 6 carbonos e 1 anel de 5 carbonos (Fig 1) (15).

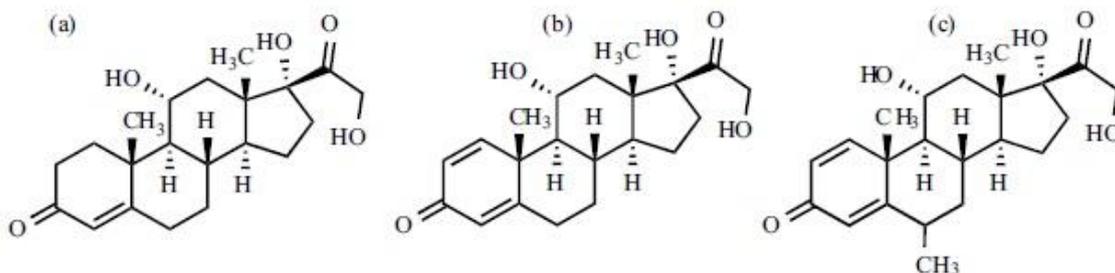


Figura 1 – Estrutura dos corticosteroides, (a) Hidrocortisona (natural), (b) Prednisolona (sintético) e (c) Metilprednisolona (sintético).

A regulação da produção e liberação dos corticosteroides começa na hipófise, glândula responsável pela liberação do hormônio trófico conhecido como CRH (Hormônio liberador de corticotrofina) que através do sistema porta hipofisário chega até a região da hipófise conhecida como adeno-hipófise ou hipófise anterior. O CRH então estimula a liberação de outro hormônio conhecido como ACTH (Hormônio adrenocorticotrófico) que entra na circulação geral chegando até as glândulas

adrenais. Na glândula adrenal o ACTH vai agir na região cortical estimulando a liberação dos hormônios corticosteroides (16).

A glândula adrenal é dividida macroscopicamente em duas grandes regiões: o córtex e a medula. A região medular é a responsável pela produção de catecolaminas enquanto o córtex produz os hormônios esteroides. O córtex da glândula adrenal possui três regiões histológicas distintas, cada qual produzindo também hormônios diferentes. A porção mais externa do córtex adrenal é a chamada zona glomerulosa, que é responsável pela produção de mineralocorticoides, dentre os quais podemos citar como sendo de maior importância a aldosterona, que contribui para a manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico. Logo abaixo está situada a zona fasciculada, que é a responsável pela produção dos glicocorticoides como a cortisona ou cortisol e, em algumas espécies como os roedores, a corticosterona. Mais próximo então à região medular temos a zona fasciculada, responsável pela produção de andrógenos como a deidroepiandrosterona (17).

O eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal é regulado através de um sistema de retroalimentação negativa ou feedback negativo, onde o hormônio corticoide secretado pela glândula, é liberado na circulação e chega até o sistema nervoso central (Hipotálamo e Hipófise) inibindo a liberação dos hormônios tróficos, com isso bloqueando o eixo e inibindo a secreção de mais corticoides (16, 18).

Os corticosteroides foram descobertos em 1935 e seu uso como medicamento foi aprovado na década de 1950 pelo FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos, chegando posteriormente na mesma década aqui no Brasil. São drogas muito utilizadas devido ao seu amplo alcance sistêmico bem como seus potentes efeitos terapêuticos, principalmente anti-inflamatórios e imunossupressores. (15)

Os glicocorticoides são moléculas extremamente lipossolúveis que exercem seus efeitos através da ligação e ativação de seus receptores que estão no citoplasma das células, posteriormente o complexo corticoide-receptor migra para o núcleo da célula onde regula a transcrição gênica (19). A potência de ação dos glicocorticoides está relacionada a sua afinidade com o receptor e ao seu tempo de ação (20).

Em relação a sua cinética sabe-se que, após a administração por via oral (V.O) em paciente hígidos, a absorção dos glicocorticoides ocorre de maneira relativamente rápida e bem significativa por ação intestinal. Possuem alta biodisponibilidade o que favorece suas ações orgânicas (14).

Outras vias de administração como a intravenosa (I.V) e a tópica também são regularmente utilizadas favorecendo boas ações dos corticoides. Deve-se estar atento a quantidade de corticoide administrado por via tópica, pois pode acabar sendo absorvido de forma demasiada causando efeitos sistêmicos indesejados (21).

Após sua absorção os corticoides chegam à corrente sanguínea onde são transportados ligados a proteínas plasmáticas como a albumina ou a globulina ligante de cortisol (transcortina). Essa ligação a proteínas plasmáticas pode chegar a níveis de até 80-90% da fração biodisponível. Somente a fração livre (10-20%) é a que vai chegar até os tecidos alvos, atravessar a membrana plasmática celular, ligar-se aos receptores e exercer seus efeitos (14, 22).

A meia vida dessa classe de compostos é bem variável e acaba também determinando o tempo de ação de cada corticoide no organismo. Podem ser divididos em drogas de ação curta (cortisol e cortisona), intermediária (prednisona, prednisolona, metilprednisolona, triancinolona) e ação longa (dexametasona e betametasona (23).

Pequenas mudanças na estrutura química dos corticoides podem gerar grandes alterações na sua atividade. A metabolização se constitui então em um processo importante para esses compostos, pois podem torná-los mais ativos ou prepará-los para eliminação. Seu principal local de metabolização é no fígado onde passará por reações de fase 1 (redução) e fase 2 (conjugação com ácido glicurônico), sendo posteriormente eliminado pelos rins através da urina (22, 24).

Devido as suas características estruturais e de farmacocinéticas, as drogas que compõem o conjunto dos corticoides interagem com praticamente todos os sistemas orgânicos, quer seja de uma forma direta ou indireta. Um dos efeitos mais comuns é sua participação no balanço hidroeletrolítico, através da ação da aldosterona. Este

hormônio vai atuar nos túbulos distais e ductos coletores aumentando a retenção de Na^+ e a excreção de K^+ e H^+ , retendo líquido dentro do organismo e diminuindo a diurese (20, 25).

O sistema locomotor responde à ação dos corticoides através da alteração da regulação das células do tecido ósseo. Ocorre principalmente inibição dos osteoblastos que são os responsáveis pela síntese e deposição de cálcio (Ca^{2+}) na matriz óssea e ativação de osteoclastos, que degradam a matriz óssea provocando perda de cálcio e outros minerais podendo levar o paciente a quadros de osteoporose (26, 27). Arelado a isto, ocorre aumento do catabolismo de proteínas, impactando o tecido muscular de forma significativa fazendo com que o indivíduo apresente sinais como fraqueza e fadiga muscular (28).

O sistema cardiovascular acaba sendo impactado também pela ação da aldosterona. A pressão arterial pode aumentar de maneira significativa podendo até causar fibrose no tecido muscular cardíaco (29 e 30).

Os elementos figurados do sangue sofrem efeitos menores por ação dos corticoides. Os eritrócitos sofrem poucos efeitos com a administração de glicocorticoides, porém sabe-se que essas mesmas drogas diminuem o número de basófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos circulantes além de reduzir a massa de tecidos linfoides (31).

No sistema nervoso central já são conhecidos os efeitos indiretos dos corticoides através da manutenção da pressão arterial e equilíbrio hidroeletrolítico (29). De maneira direta ocorre relatos de alteração de humor nos pacientes que fazem uso de glicocorticoide. Alterações como melhora de humor, mania, insônia, inquietação, ansiedade, aumento de atividade motora já foram relatadas (29, 32).

De todos os efeitos dos corticoides, existem dois que são os mais requeridos, os efeitos anti-inflamatórios e imunossupressor (33). Apesar de não tratar a gênese em si da doença, os efeitos anti-inflamatório e imunossupressor possuem papel especial na resolução dos quadros de diversas doenças e também conferem bem-estar e

qualidade de vida aos pacientes, tornando os glicocorticoides drogas regularmente prescritas para essas situações (34, 35).

Existem diversos mecanismos pelos quais os glicocorticoides exercem seus efeitos anti-inflamatórios, sendo os mais conhecidos relacionados a estimulação do aumento da produção de lipocortina que inibe a enzima fosfolipase A2 e consequentemente a via do ácido araquidônico e a produção dos eicosanoides. Acredita-se que a ação imunossupressora e anti-inflamatória estão conectadas devido a redução da função leucocitária (36, 37).

Outra ação dos glicocorticoides é a inibição das enzimas ciclooxigenase, sabe-se que essa família de enzimas possui ação importante no que diz respeito a produção de mediadores químicos em processos inflamatórios, principalmente a isoforma ciclooxigenase 2. Sendo assim, ao inibir essas enzimas ocorre uma diminuição da produção de prostaglandinas, prostaciclina e leucotrienos, o que ajuda a combater o processo inflamatório (34,36).

As vias de produção de energia são muito afetadas pelos glicocorticoides, eles estimulam, na periferia, a degradação das proteínas, a mobilização das reservas lipídicas (lipólise) e diminuem a utilização da glicose como fonte de energia. No fígado, os metabolitos das proteínas e lipídios serão usados para produção de energia, um processo denominado de gliconeogênese (38). No fígado também ocorre o estímulo para armazenar a glicose na forma de glicogênio (glicogênese). Todos esses substratos fazem com que ocorra então aumento dos níveis de glicose, tornando os glicocorticoides compostos hiperglicemiantes (33).

O efeito de lipólise causado pelos glicocorticoides resulta em sinais clínicos muito característicos da ação dessas drogas. Ocorre redistribuição da gordura corporal, sendo comum observar acúmulo na região dorsal do pescoço (“giba de búfalo”) e no rosto (“face de lua cheia”) (39).

1.3 – Corticoides e gestação

Em seres humanos a classe farmacológica dos corticoides é usada com frequência principalmente com o objetivo de acelerar a maturação do feto em desenvolvimento. O seu uso está relacionado principalmente a redução da incidência da síndrome da angústia respiratória, através do estímulo para produção de surfactante pulmonar. Porém pode-se utilizar os corticoides na tentativa de diminuir a incidência de hemorragias intraventriculares, leucomalácia periventricular, retinopatia da prematuridade, enterocolite necrotizante, persistência do canal arterial e, principalmente, da mortalidade neonatal (73).

Já em animais experimentais, o tratamento materno com dexametasona no terceiro período gestacional é um modelo muito utilizado para indução da reprogramação metabólica fetal. Este modelo é obtido pela administração de dexametasona na água de beber, por apresentar alta reprodutibilidade dos efeitos biológicos e, mais importante, porque o excesso de glicocorticóides é característica comum de vários insultos metabólicos, como desnutrição calóricoproteica, estresse e obesidade (40, 41, 42, 43).

Curiosamente, os triglicerídeos maternos – que são fonte energética e estrutural para o crescimento e desenvolvimento fetal – aparentemente não são eficientemente direcionados para a circulação feto-placentária quando há excesso pré-natal de glicocorticoides, o que indica que deve haver acúmulo nos tecidos maternos (44).

Muitos trabalhos que utilizam insultos metabólicos na gestação avaliam as repercussões na prole. Esses trabalhos, em sua maioria, nunca observaram se havia algum tipo de alteração metabólica nas mães que receberam o glicocorticoide (44, 45).

Recentemente iniciou-se a investigação das repercussões a longo prazo nas mães, como avaliar a função pancreática de ratas expostas à dexametasona no terceiro período gestacional. Foi demonstrado que o excesso de glicocorticoides causa drásticas alterações imediatas no ganho de peso, mas não na glicemia ou função pancreática maternas. Entretanto, a partir de 3 meses após a gestação associada ao

tratamento com dexametasona, as mães passaram a apresentar intolerância à glicose e perda da função pancreática, aparentemente irreversíveis (45).

Outro trabalho mostrou que durante o período gestacional ocorre um estágio de hiperfagia com déficit calórico e aumento nos níveis de prolactina com diminuição da leptina em ratos. Este estado favorece o aumento da produção de leite por conta também da diminuição do tecido adiposo marrom e acúmulo do tecido adiposo branco (46).

Sabe-se que 98% da gordura do leite é de triglicerídeos e que a síntese destes ocorre em células epiteliais mamárias. Os ácidos graxos (AG) usados para a síntese de TG vêm de duas fontes, lipídios do sangue e síntese de novo dentro das células epiteliais mamárias (47). Isso demonstra a importância do tecido glandular mamário no metabolismo lipídico materno no período gestacional.

Por causa de todas essas evidências a nossa hipótese é a de que o metabolismo lipídico materno, das fêmeas tratadas com corticoide sofre alteração e essa alteração está possivelmente relacionada ao tecido mamário.

2. OBJETIVOS

1. Investigar se a administração de corticoide no terço final da gestação causa alteração no metabolismo lipídico da fêmea lactante.
2. Investigar se a administração de corticoide causa alteração da função hepática, no que diz respeito ao metabolismo lipídico da fêmea lactante.
3. Investigar se a administração de corticoide causa alteração no tecido mamário e se isso interfere no metabolismo lipídico nos dias iniciais de lactação.
4. Investigar se o uso de corticoides no terço final da gestação causa impacto no desenvolvimento da prole.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Animais e desenho experimental

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas (CEUA/UNICAMP protocolo nº 4221-1). Ratas da linhagem Wistar foram adquiridas do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) da UNICAMP e alojadas no biotério do departamento de Farmacologia em condições controladas e ideais como temperatura a 22°C, ciclo claro-escuro de 12 horas e água e ração (Nuvilab® CR-1, Quimtia S.A, Colombo, Paraná, Brasil) *ad libitum*.

Com a idade de 12 semanas foram alojadas aos pares em gaiolas com um macho, durante 3 dias. Em seguida, os machos foram retirados e as fêmeas pesadas. Após 15 dias, foram novamente pesadas para se constatar a prenhez. Neste dia, as ratas consideradas prenhes, as que obtiveram um aumento de peso superior a 30g, foram colocadas individualmente em gaiolas, iniciou-se o tratamento com dexametasona e mantiveram-se as condições no biotério até o fim do protocolo.

3.2 - Tratamento com dexametasona

As ratas prenhes foram separadas em dois grupos, que receberam veículo (CTL) ou dexametasona (DEX) (0,1 mg/kg peso corporal; Aché Laboratórios Farmacêuticos, Guarulhos, São Paulo, Brasil) na água de beber durante 6 dias. A dose da droga era ajustada diariamente, baseando-se na quantidade de água ingerida e no peso corporal dos animais. Ratas virgens (não prenhes) com a mesma idade foram mantidas nas condições ambientais. Um dia após o parto, o número de filhotes por mãe foi ajustado para cinco. As mães foram utilizadas para os procedimentos experimentais no 3° (L3), 8° (L8), 14° (L14) e 21° (L21) dia de lactação. No dia dos experimentos, os animais foram eutanasiados por aprofundamento de anestesia com Tiopental (80 mg/kg peso corporal; i.p.) seguido por decapitação, e os tecidos removidos para os experimentos descritos a seguir. A prole foi eutanasiada por decapitação.

3.3 – Pesagem dos animais

As ratas e suas proles foram pesadas em L3, L8, L14 e L21 em uma balança semi-analítica sendo o manejo feito de maneira a causar o menor estresse possível.

3.4 - Análises bioquímicas

O sangue coletado por decapitação na prole ou por pequena secção na cauda (mães) foi utilizado para a realização das dosagens de Triglicerídeos e Colesterol. Após a coleta do sangue ele foi submetido a centrifugação (350 RPM) por 15 minutos numa temperatura de 4°C. Com isso o soro sanguíneo foi extraído e realizaram-se as dosagens com *kits* colorimétricos (Labtest Diagnóstica SA, MG, Brasil) seguindo-se as recomendações do fabricante.

3.5 – Quantificação de Triglicerídeos e colesterol em tecidos

Para a realização desse experimento foi coletado aproximadamente 50mg de fígado ou glândula mamária, sendo que da glândula mamária eram coletadas as glândulas que estivessem produzindo mais leite de acordo com o descrito posteriormente. Esses tecidos então recebiam uma solução de Metanol:Clorofórmio (2:1) e eram homogeneizados com o auxílio de uma tesoura e um politron. O homogenato foi mantido overnight em um processo de agitação contínuo a uma temperatura entre 2°C e 8°C. Posteriormente foram acrescentados 200 µL de uma solução de NaCl a 6%, centrifugados a 2000 RPM, por 20 min a 4°C. Após a centrifugação observa-se a formação de uma amostra trifásica onde a fase inferior, contendo clorofórmio, era retirada e transferida para um novo microtubo. Essas amostras foram levadas até a capela de fluxo laminar para evaporação completa do clorofórmio e após isso acrescentou-se 100µL de isopropanol para a ressuspensão do conteúdo lipídico remanescente. As dosagens de TG e colesterol foram realizadas utilizando-se *kits* colorimétricos comerciais seguindo-se as recomendações dos fabricantes.

3.6 – Quantificação de Triglicerídeos e colesterol no leite

A coleta de leite foi realizada de acordo com método previamente descrito (48), com pequenas modificações. As amostras de leite foram coletadas em L3 e L8. As mães foram separadas de seus filhotes cerca 2 horas antes da realização do

experimento. Após este tempo foram injetadas com ocitocina (5 UI/ml, SC) e 15 minutos depois foram anestesiadas com isoflurano. A ordenha manual então foi executada nas glândulas torácicas e abdominais. Foram utilizados 10 µL de leite de uma solução diluída 1:100, misturados uma solução de Metanol:Clorofórmio (2:1), ficando overnight em um processo de agitação contínuo a uma temperatura entre 2°C e 8°C. Posteriormente foram acrescentados 50 µL de uma solução de NaCl a 6% e centrifugadas a 2000 RPM por 20 min a 4°C. Após a centrifugação e formação de amostra trifásica, coletou-se a fase inferior, contendo clorofórmio e transferiu-se a mesma para um novo microtubo. As amostras foram levadas até a capela de fluxo laminar para evaporação completa do clorofórmio e depois acrescentou-se 50µL de isopropanol para ressuspensão do conteúdo lipídico remanescente. As dosagens de TG e colesterol foram realizadas utilizando-se os *kits* colorimétricos seguindo-se as recomendações dos fabricantes.

3.7 - Dosagem de glicemia com kits de tiras-teste

A glicose sanguínea foi determinada com o medidor de glicose Accu-Chek® Active (Roche Diabetes Care Brasil LTDA, São Paulo, São Paulo, Brasil), onde uma gota de sangue obtida após uma pequena secção da cauda era colocada nas tiras reativas do medidor.

3.8 - Teste de produção de VLDL (Teste do Tyloxapol)

A mensuração da produção de VLDL foi executada de acordo com a metodologia a seguir (49, 50). De forma sucinta, o Tyloxapol (Triton WR-1339, Sigma Aldrich, St Louis, EUA) foi dissolvido em solução salina a 0,9% e mantido sob agitação lenta e contínua até estar completamente dissolvido. Antes da administração do Tyloxapol foi coletado 100µL de sangue da cauda dos animais (0h). Posteriormente foi injetado o Tyloxapol i.p. (500 µg / kg) numa concentração de 20%, em ratas jejuadas por 12 horas. Após 1, 2, 3 e 6 horas, 100µL de sangue foram coletados da cauda. Após a coleta, o sangue passou por um processo de centrifugação a 350 RPM por 15 minutos a 4°C, onde o soro foi extraído e o TG mensurado imediatamente usando kit comercial para dosagem de triglicerídeos (Labtest Diagnóstica SA, MG, Brasil). Durante o tempo de execução do teste os animais tinham água à disposição.

3.9 - Teste de absorção de gordura

O segundo teste, teste do azeite, foi realizado de acordo com método previamente descrito (51). Os animais receberam azeite de oliva, pela via oral (gavagem) na dose 5ml/kg. Amostras de sangue (100µL) foram coletadas da cauda nos tempos 0, 3 e 6 h. Após a coleta, o sangue passou pelo mesmo processo descrito anteriormente para extração do soro sanguíneo e o TG foi mensurado imediatamente após cada coleta com kit comercial (Labtest Diagnóstica SA, MG, Brasil). Os animais também tiveram água à vontade durante todo o tempo do experimento.

3.10 – Extração de RNA

O RNA foi extraído com TRIzol (QIAzol Lysis Reagente, 79306, Sigma-Aldrich, EUA) e clorofórmio (Cloroformio PA, Lote 213858, Labsynth, Brasil). Foram utilizados aproximadamente 100 mg de tecido da glândula mamária. O tecido então foi homogeneizado com 1mL de TRIzol e posteriormente foram adicionados 200 µL do clorofórmio, sendo homogeneizado novamente e deixado por 15 minutos em temperatura ambiente para posterior centrifugação (1200 xg, por 15 minutos a 4°C). A fase clorofórmica foi coletada e adicionou-se a ela álcool isopropílico (Álcool isopropílico, Lote 212918, Labsynth, Brasil), sendo posteriormente este conteúdo homogeneizado e centrifugado para a formação do *pellet* de RNA. Realizou-se a lavagem com álcool a 70% e em seguida álcool a 100%. Após a evaporação e secagem total do álcool o *pellet* de RNA foi resuspendido com água livre de nuclease.

3.11 – Análise da expressão gênica (qPCR)

A quantificação do RNA foi realizada no aparelho *NanoDrop Lite Spectrophotometer*, *Thermo Scientific* nos comprimentos de onda de 260 e 280nm. O RNA foi separado em alíquotas de 2µg com um volume final total de 10µL (foi utilizada a água livre de nuclease para ajuste do volume).

A transcrição reversa foi realizada utilizando-se a enzima transcriptase reversa *MultiScribe™*, tampão RT, 100 mM de dNTP, oligonucleotídeos randômicos e utilizada água livre de nuclease para ajuste de um volume total de reação de 20 µL,

de acordo com as instruções do fabricante. As reações seguiram a seguinte sequência: incubação inicial de 10 minutos a 25°C; posteriormente 2 horas a 37°C; 5 minutos a 85°C e foram mantidas a 4°C em termociclador.

A reação padrão de qPCR foi realizada usando Sybr Green (KAPA SYBR® FAST). Foram analisados os seguintes genes:

- CD36 (Sense: 5'-GATGACGTGGCAAAGAACAG-3'; antisense, 5'-TCCTCGGGGTCCTGAGTTAT-3')
- DGAT2 (Sense: 5'-TGGGTCCAGAAGAAGTTCCAGAAGTA-3', antisense 5'-ACCTCAGTCTCTGGAAGGCCAAAT-3')
- LPL (Sense: 5'-CAGAGTTTGACCGCCTTCC-3', antisense 5'-AATTTGCTTTGATGTCTGAGAA-3')
- FASN (Sense: 5'- TGGTGAAGCCCAGAGGGATC-3'; antisense: 5'-CACTTCCACACCCATGAGCG-3')
- Me1 (Sense: 5'-ACTGATGGAGAGCGAATCCTCG-3'; antisense 5'-TTTCTGTGCCACGTCCAAAG-3')
- CideA (Sense: 5'-GCTGTCTCAATGTCAAAGCCAC-3'; antisense: 5'-TCTGTGTCACCCAGTGCTCG-3')
- CideB (Sense: 5'-ACGTGAAAGCTACATTCTACGG-3'; antisense: 5'-GTAGATGAGATTCCCAGCAGC-3')
- PEPCK (Sense: 5'-TGGTCTGGACTTCTCTGCCAAG-3'; antisense: 5'-AATGATGACCGTCTTGCTTTTCG-3')
- FBP1 (Sense: 5'-ACCGCACTCTGGTGTATGGAGG-3'; antisense: 5'-CCTTCTGGTGGATCTCAGTGGG-3')
- ACC (Sense: 5'-TGCTTATATTGTGGATGGCTTG-3'; antisense: 5'-TTCTACTGTCCCTTCTGGTTCC-3')

- SECD (Sense: 5'-ATTGCCACCATCTTCGTCTTTG-3'; antisense: 5'-ATGACGTATCCGACCAGGTGC-3')
- RPL37a (Sense 5'-CAAGAAGGTCGGGATCGTCG-3', antisense 5'-ACCAGGCAAGTCTCAGGAGGTG3')

Os dados obtidos foram analisados pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$ e o gene constitutivo RPL37a utilizado como normalizador.

3.12 - Cromatografia da glândula mamária e fígado

Os lipídeos foram extraídos pelo método 996.06 da AOAC (52) com modificações. Porções de tecidos de cerca de 200 mg de 5 animais de cada grupo foram pesadas em tubo de ensaio de 30 mL (Pyrex 9826), com rosca e tampa de teflon. Foram adicionados 25 mg de ácido pirogálico para minimizar a oxidação dos ácidos graxos, 0,5 mL de etanol 95% e algumas pérolas de vidro. As amostras foram submetidas à hidrólise ácida com 2,5 mL de HCL 8,3 M e agitadas em banho termostaticado com agitação, à temperatura de 75°C por 40 min. Depois de resfriados à temperatura ambiente foram adicionados 6 mL de éter etílico e cada tubo foi agitado em agitador tipo Vortex por 1 min. Em seguida, foram adicionados 6 mL de éter de petróleo e novamente agitados. Os tubos foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 min. e a fase superior (etérea) foi transferida para outro tubo. O solvente foi evaporado lentamente em banho termostaticado, em temperatura menor do que 40°C, utilizando N₂ gasoso, em seguida foi adicionado 1 mL de trifluoreto de boro 7% em metanol, 0,5 mL de tolueno e algumas pérolas de vidro. Os tubos foram bem tampados e colocados em banho fervente por 45 min; depois de resfriados à temperatura ambiente, foram adicionados 2,5 mL de água, 1 mL de hexano e aproximadamente 0,5 g de Na₂SO₄ anidro. Após agitação, os tubos foram mantidos em repouso até a separação das fases. Em seguida, a fase superior foi transferida para um tubo contendo pequena quantidade de sulfato de sódio. Um microlitro das amostras foi analisado em cromatógrafo gasoso GC 2010 Plus da Shimadzu, Workstation GC solution, equipado com injetor automático AOC-20, detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida SP-2560 (bis cianopropil polisiloxana) de 100 m x 0.25 mm. de diâmetro interno e 0,25 µm de

espessura da fase estacionária da Supelco. A programação de temperatura da coluna foi 140°C por 5 min, aquecimento a 4°C/min até 240°C, permanecendo nesta temperatura por 20 min. As temperaturas do injetor e detector foram 250°C e 260°C respectivamente. O gás de arraste foi o hélio a um fluxo de 1 mL/min e a razão de divisão da amostra 1/50. Os tempos de retenção dos ácidos graxos da amostra foram comparados com o padrão 189 19 Sigma e os cálculos foram baseados na área e concentração do padrão interno, utilizando-se os fatores de resposta teóricos do FID (flame ionization detector), do método Ce 1h-05 e fatores de conversão do método Ce 1j-07 da AOCS.

3.13 - Análise estatística

Os dados obtidos foram expressos como média \pm E.P.M. A análise estatística foi realizada via análise da variância de um fator (one-way ANOVA - software Prism 5.0), seguida de pós-teste (Teste de Tukey) para comparações múltiplas. Valores de $p < 0.05$ foram considerados significativos. Para análises temporais entre os grupos utilizou-se a análise de variância de duas vias (two-way ANOVA - software Prism 5.0) onde também valores de $p < 0.05$ foram considerados significativos.

4. RESULTADOS

4.1 – Efeito da exposição a glicocorticoides no perfil metabólico e glicêmico

A figura 2 mostra que as ratas lactantes tratadas com a dexametasona (LD) apresentaram um aumento significativo do TG (A) circulante nos pontos L3 e L8, quando comparadas às ratas lactantes não tratadas com o corticoide (LV) e às ratas não lactantes (CTL). Já as ratas LV, apresentaram níveis de TG circulantes menores também quando comparadas as ratas controle (CTL) em todos os pontos aferidos (L3, L8 e L14).

Em relação ao colesterol (B), no terceiro dia de lactação (L3) não foi observada diferença entres os grupos. Já no oitavo dia (L8), o grupo LD apresentou aumento significativo dos níveis de colesterol em relação aos grupos LV e CTL e em L14 houve aumento significativo em relação a CTL. O grupo LV mostrou aumento não significativo dos níveis de colesterol em relação ao grupo CTL em L8 e L14.

Não houve diferença na glicemia (C) dos 3 grupos no terceiro dia de lactação (L3). Em L8 os grupos lactantes (LV e LD) apresentaram diminuição não significativa da glicemia em relação ao grupo CTL. Em L14 os grupos LV e LD acentuaram a queda da glicemia tornado-a significativa quando comparada ao grupo CTL. Não houve diferença significativa entre LD e LV em qualquer dos dias observados.

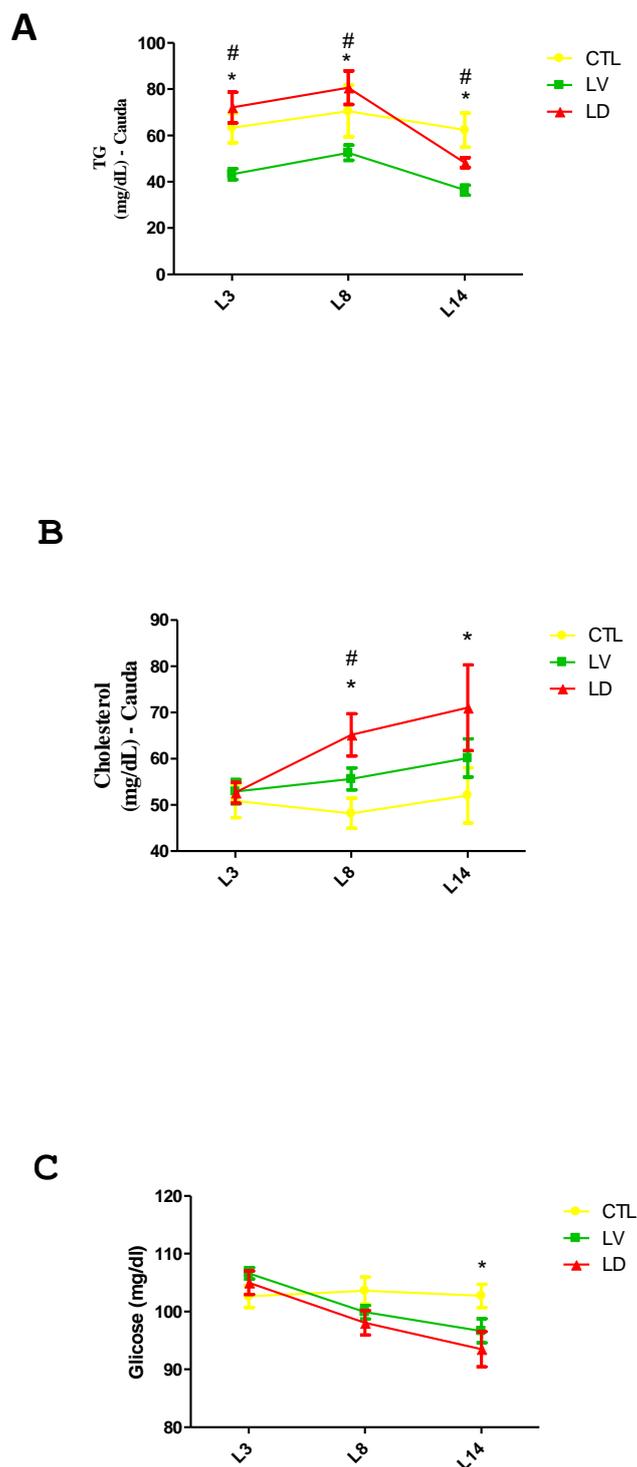


Figura 2 – Quantificação dos níveis de TG (A), colesterol (B) e glicemia (C) de ratas que não engravidaram (CTL, n = 8), das que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação e foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3), 8º (L8) e 14º (L14). Ratas controle também foram eutanasiadas. Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 8 animais. * P < 0,05 vs. Controle (CTL, n = 8) nos pontos L3, L8 e L14 e # P < 0,05 vs. LD (LD, n = 8) nos mesmos pontos observados.

4.2- Evolução ponderal do peso

A figura 3 mostra que as ratas lactantes (LV e LD) aumentaram significativamente de peso em todos os pontos observados (L3, L8, L14 e L21) quando comparadas as ratas controle (CTL). O aumento do grupo tratado com a dexametasona foi significativamente superior também quando comparado ao grupo LD.

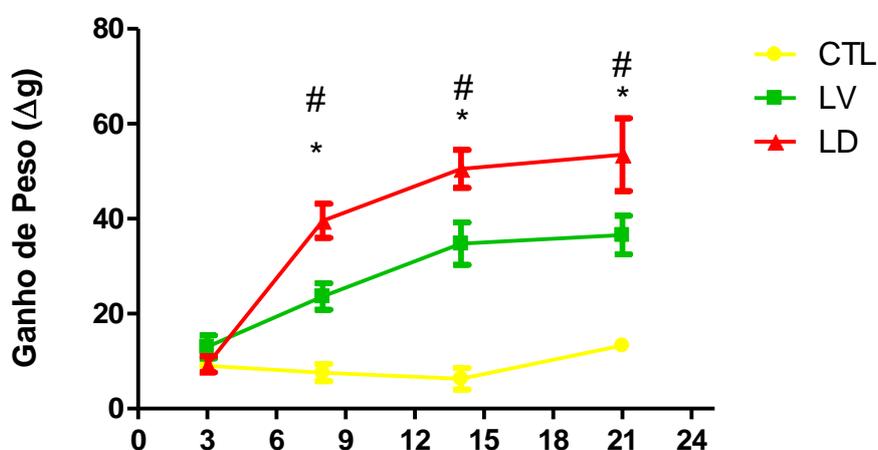


Figura 3 - Evolução ponderal do peso de ratas que não engravidaram (CTL, n = 8), das que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação e foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3), 8º (L8), 14º (L14) e 21º (L21). Ratas controle também foram eutanasiadas. Os dados são expressos como média ± SEM para n = 8 animais. * P <0,05 vs. Controle (CTL, n = 8) nos pontos L8, L14 e L21 e # P <0,05 vs. LD (LD, n = 8) nos mesmos pontos observados.

4.3 – Perfil lipídico e evolução ponderal do peso da prole

A figura 4 mostra que a prole proveniente de ratas LD apresenta aumento significativo de TG (A) nos dias L3, L8 e L21 quando comparada a prole das fêmeas LV. Já em relação ao colesterol (B) a prole de mães LD apresenta aumento significativo apenas em L3.

Em relação a evolução do peso (C) pode-se observar que o ganho de peso da prole das ratas LD é significativamente menor em todos os pontos observados (L3, L8, L14 e L21) quando comparado com a prole das fêmeas LV.

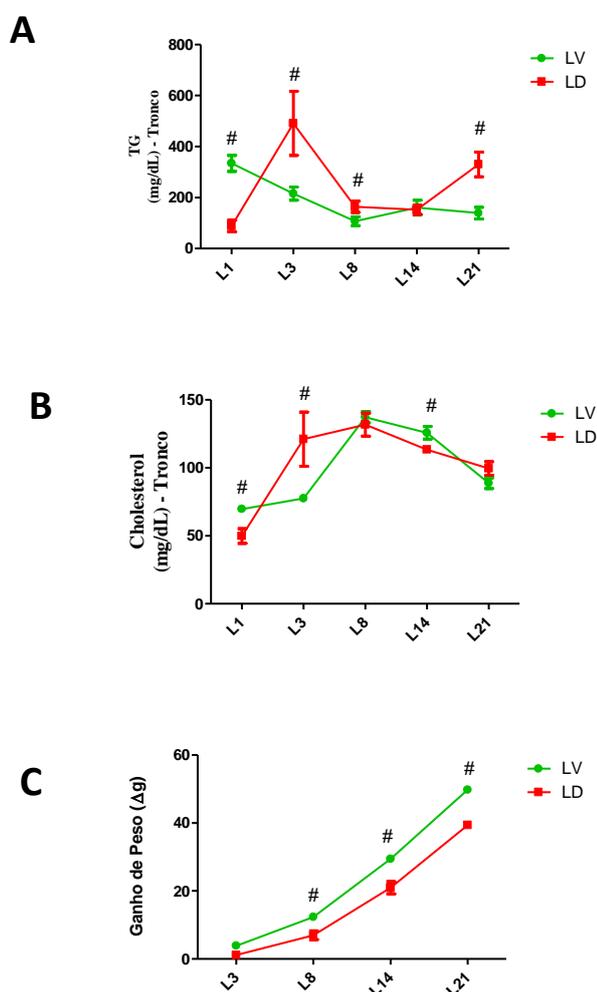


Figura 4 - Quantificação dos níveis de TG (A), colesterol (B) e evolução ponderal do peso da prole de ratas (C) que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação. Os filhotes foram eutanasiados no terceiro dia de lactação (L3), 8^o (L8), 14^o (L14) e 21^o (L21). Os dados são expressos como média ± SEM para n = 8 animais. # P < 0,05 vs. LD (LD, n = 8) em L3, L8, L14 e L21.

4.4 – Perfil lipídico do tecido mamário e do leite

A figura 5 mostra que o tecido mamário das ratas LD contém maior quantidade de TG (A) e colesterol (B) nos pontos de observação (L3 e L8), quando comparado ao grupo LV.

Em relação ao leite, o grupo veículo (LV) apresenta maior concentração de TG (C) em L3, e em L8 não há diferença. Para o colesterol (D) também não foi observada diferença entre os grupos estudados.

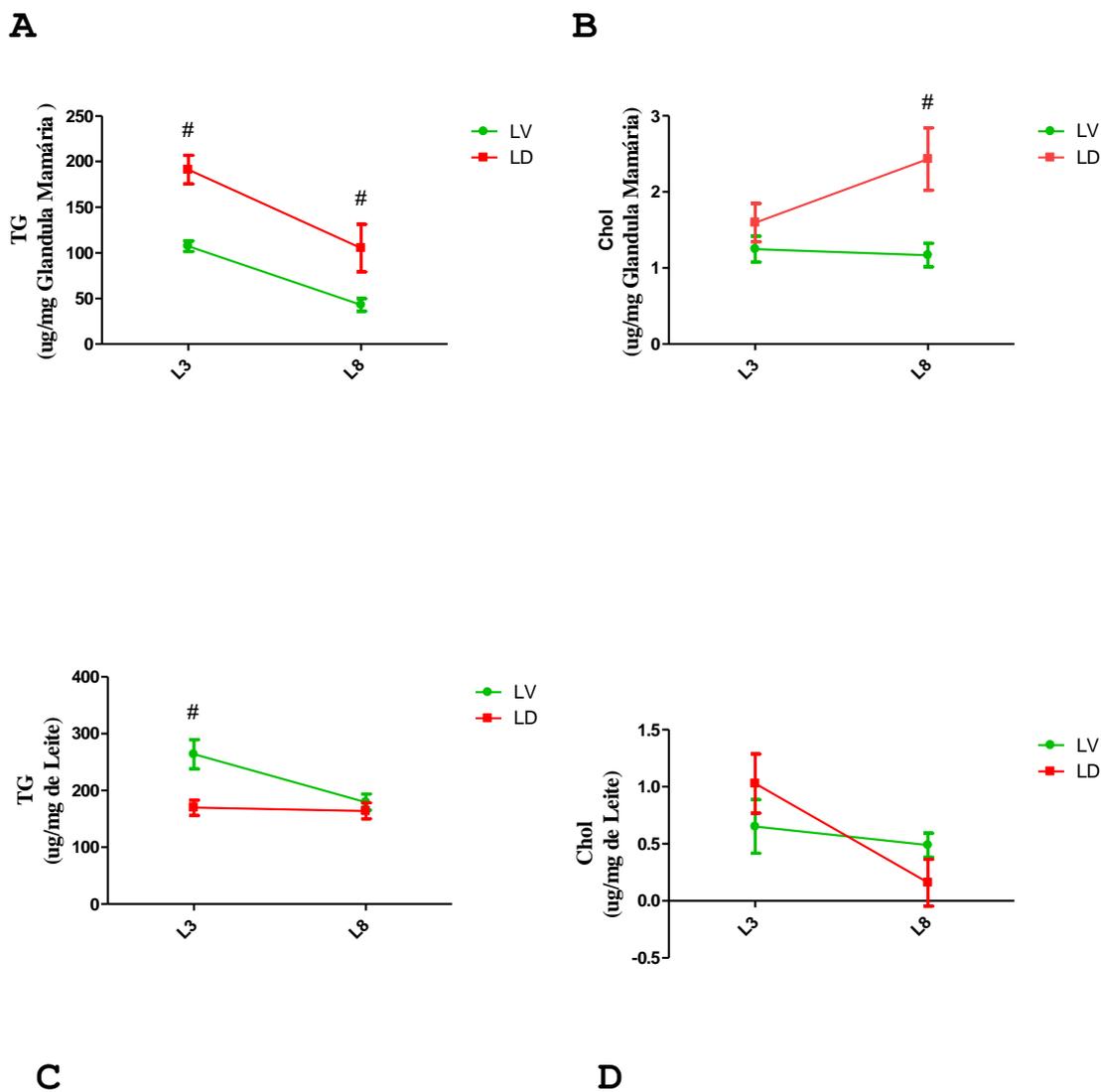


Figura 5 - Quantificação dos níveis de TG (A) e colesterol (B) no tecido da glândula mamária e no leite das ratas lactantes que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação. As ratas foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3) e 8º (L8). Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 8 animais. # $P < 0,05$ vs. LD (LD, n = 8) em L3 e L8.

4.5 - Teste de produção de VLDL (Teste do Tyloxapol)

Observa-se na figura 6 que o grupo LD, no terceiro dia de lactação (L3), apresenta concentrações significativamente maiores de TG a partir da segunda hora de observação até a sexta hora (após injeção com tyloxapol), quando comparado ao LV.

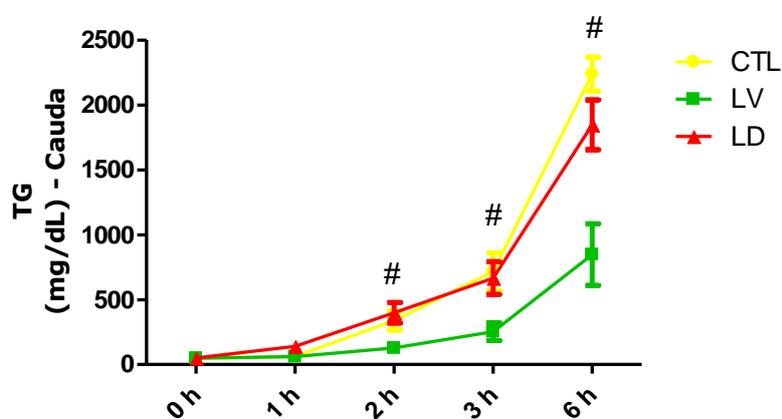


Figura 6 – Teste da produção de VLDL (desafio com tyloxapol) em ratos que não engravidaram (CTL, n = 8), nas que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e nas que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação e foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3). Ratos controle também foram eutanasiadas. Foi realizada uma coleta basal (0h) e após 1, 2, 3 e 6 horas. Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 8 animais. # P < 0,05 vs. LD (LD, n = 8) nos pontos referidos anteriormente.

4.6 - Teste de tolerância à sobrecarga oral de ácidos graxos

A figura 7 mostra que o grupo LD apresenta uma maior concentração de TG na terceira hora após gavagem com azeite de oliva quando comparado ao LV, já na sexta hora não houve diferença significativa entre os grupos de lactantes.

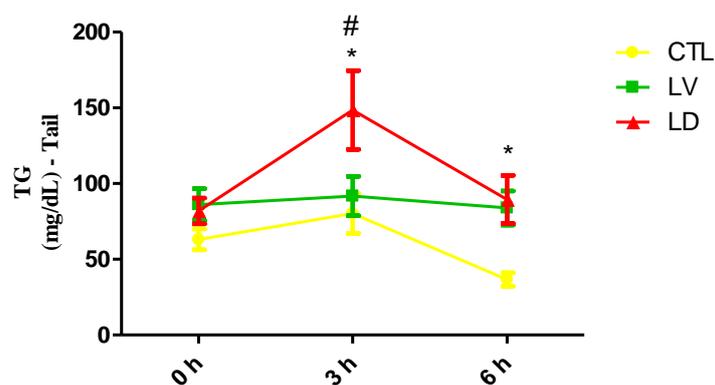


Figura 7 - Teste de tolerância a sobrecarga oral de ácidos graxos (teste do azeite) em ratos que não engravidaram (CTL, n = 8), nas que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e nas que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação e foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3). Ratas controle também foram eutanasiadas. Foi realizada uma coleta basal (0h) e após 1, 3 e 6 horas. Os dados são expressos como média ± SEM para n = 8 animais. * P < 0,05 vs. Controle (CTL, n = 8) nos pontos 3h e 6h e # P < 0,05 vs. LD (LD, n = 8) na terceira hora.

4.7 - Expressão gênica em tecido mamário

A figura 8 apresenta um painel com vários genes relacionados ao metabolismo lipídico das células do tecido mamário. Foi observada diferença significativa na expressão gênica no terceiro dia de lactação (L3) nos genes LPL (A), FASN (B) e ACC (C), onde o grupo LD expressa em menor quantidade. Nos demais genes testados Cd36 (D), FBP1(E), Me1 (F), CIDEA (G), CIDEB (H), PepCK (I), DGAT2 (J) e SECD (K) e dias observados não houve diferença significativa entre os grupos.

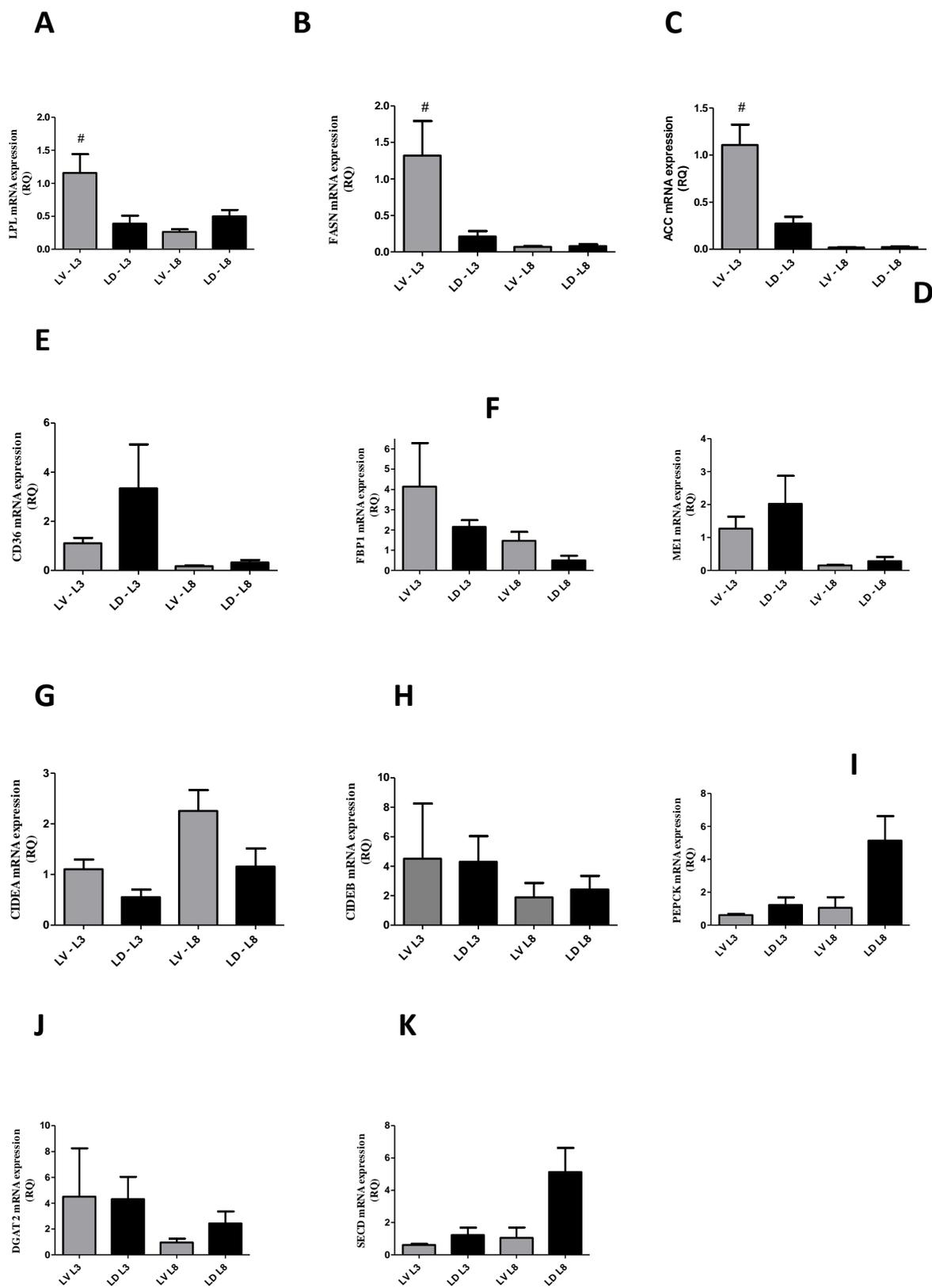


Figura 8 – Expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico em tecido mamário de ratas lactantes que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação. As ratas foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3) e 8º (L8). Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 8 animais. # P < 0,05 vs. LD (LD, n = 8) em L3 e L8.

4.8 - Perfil lipídico do tecido hepático

A figura 9 apresenta o perfil lipídico do tecido hepático nos pontos L3 e L8, onde é possível perceber que não houve diferenças significativas no TG (A) e nem no colesterol (B) entre os grupos tratado LD e LV, bem como entre estes grupos e o grupo CTL.

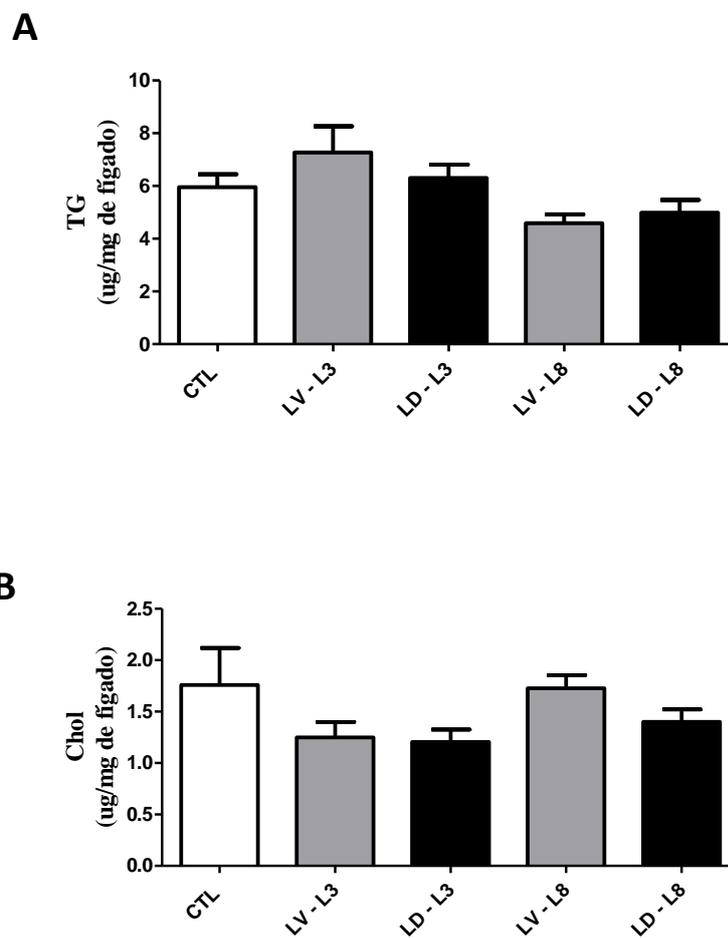


Figura 9 - Quantificação dos níveis de TG (A) e colesterol (B) no tecido hepático de ratas que não engravidaram (CTL, n = 8), das que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação e foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3) e 8° (L8). Ratas controle também foram eutanasiadas. Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 8 animais.

4.9 – Expressão gênica em tecido hepático

A figura 10 apresenta um painel com vários genes relacionados ao metabolismo lipídico da síntese de TG e montagem de VLDL pelo tecido hepático como FASN (A), CD36 (B), Me1 (C), Sec 22 (D) ApoB (E) e MTTP (F). Não foram observadas diferenças entre os grupos estudados (CTL, LD e LV) na expressão dos genes relacionados abaixo no terceiro dia de lactação (L3).

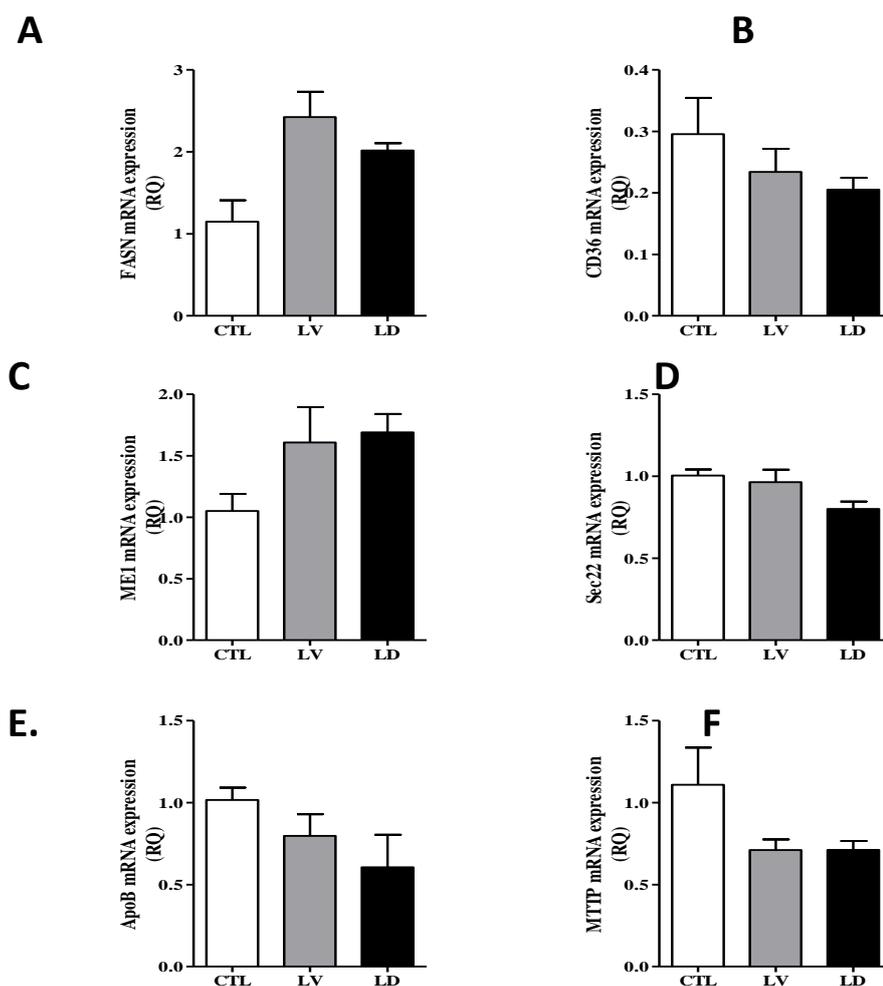
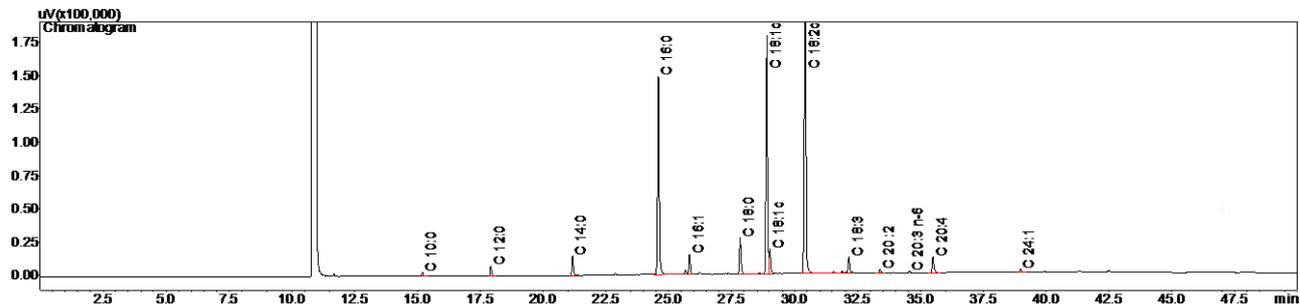


Figura 10 - Expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico da síntese de TG e produção de VLDL em tecido hepático de ratas lactantes que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação. As ratas foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3). Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 8 animais.

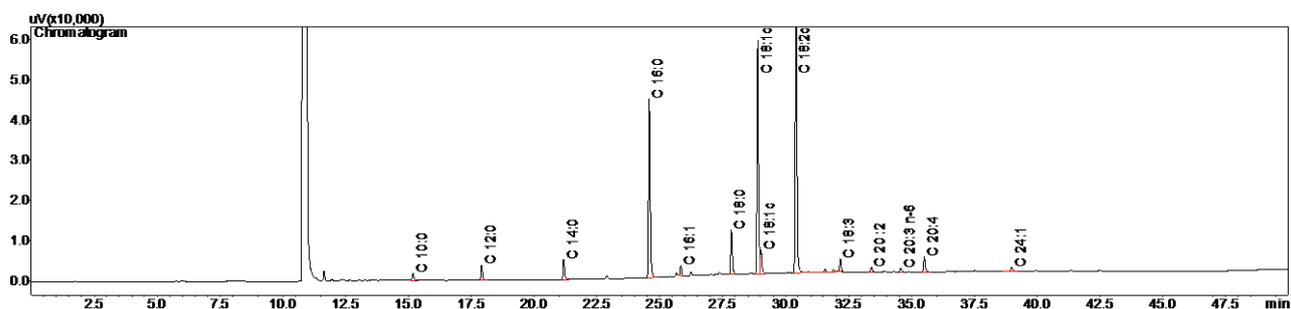
4.10 – Cromatograma de glândula mamária e fígado

A figura 11 mostra a cromatografia realizada em tecido mamário e em tecido hepático das ratas em lactação dos grupos LV (A e C) e LD (B e D) com a finalidade de se avaliar os teores dos diferentes tipos de ácidos graxos saturados e insaturados presentes nestes tecidos. já a tabela 1 mostra os resultados expressos numericamente. As amostras foram coletadas no terceiro dia de lactação (L3). Não foram observadas diferenças significativas nos teores dos ácidos graxos analisados em tecido hepático (n=5, para cada grupo). Na glândula mamaria (n=5, para cada grupo) também não foram observadas diferenças significativas entre os grupos analisados (LV e LD).

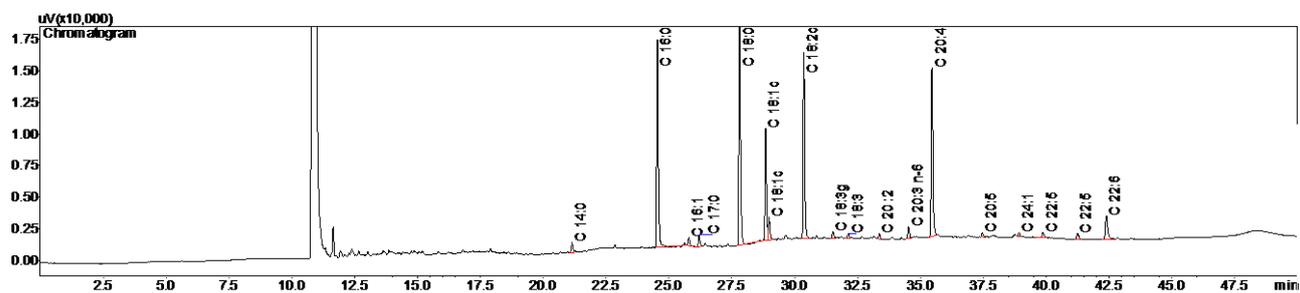
A - Glândula mamária LV



B - Glândula mamária LD



C - Fígado LV



D - Fígado LD

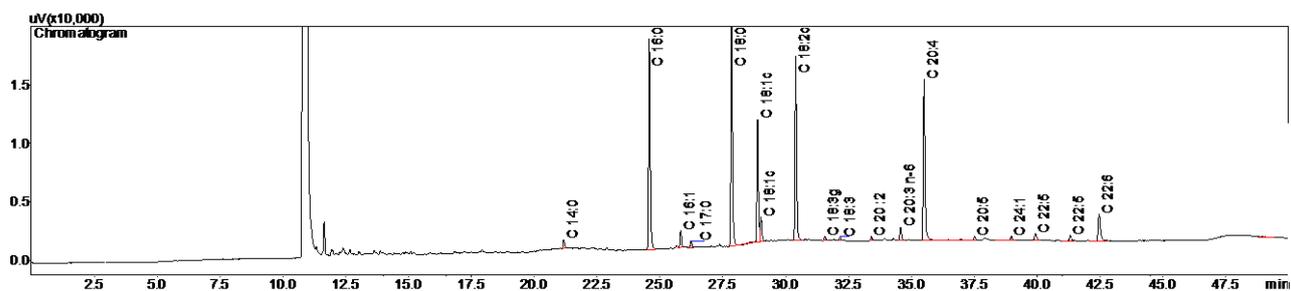


Figura 11 – Cromatografia em tecido hepático e mamário de ratas lactantes que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 5) e das que receberam veículo (LV, n = 5) durante a última semana de gestação. As ratas foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3). Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 5 animais.

| Fórmula | Nome | Glândula mamária LV | Glândula mamária LD | Fígado LV | Fígado LD |
|---------------|------------------------|---------------------|---------------------|--------------|--------------|
| 10 : 0 | Cáprico | 1,90 ± 2,64 | 0,57 ± 0,50 | — | — |
| 12 : 0 | Láurico | 2,81 ± 1,90 | 1,10 ± 0,89 | — | — |
| 14 : 0 | Mirístico | 3,90 ± 1,60 | 1,80 ± 0,93 | 0,87 ± 0,09 | 1,00 ± 0,39 |
| 16 : 0 | Palmitico | 19,82 ± 1,24 | 19,87 ± 0,73 | 20,11 ± 3,02 | 20,28 ± 1,19 |
| 16 : 1 (n-7) | Hexadecenóico | 0,96 ± 0,71 | 1,13 ± 0,40 | 0,66 ± 0,29 | 1,18 ± 0,38 |
| 17 : 0 | Margárico | — | — | 0,96 ± 0,17 | 0,83 ± 0,17 |
| 18 : 0 | Esteárico | 5,42 ± 0,78 | 5,37 ± 1,41 | 24,45 ± 1,34 | 22,89 ± 1,38 |
| 18 : 1 (n-9) | Oleico | 22,62 ± 2,68 | 26,53 ± 1,94 | 9,38 ± 1,81 | 11,67 ± 1,28 |
| 18 : 1 (n-11) | Vacênico | 2,38 ± 0,21 | 2,79 ± 0,15 | 2,09 ± 0,22 | 2,38 ± 0,15 |
| 18 : 2 (n-6) | Linoleico | 34,42 ± 3,32 | 36,18 ± 1,88 | 16,92 ± 2,34 | 16,38 ± 0,73 |
| 18 : 3 (n-6) | γ-Linolênico | — | — | 0,29 ± 0,20 | 0,36 ± 0,10 |
| 18 : 3 (n-3) | α-Linolênico | 1,55 ± 0,22 | 0,96 ± 0,44 | 0,49 ± 0,12 | 0,37 ± 0,12 |
| 20 : 2 (n-6) | Eicosadienóico | 0,73 ± 0,20 | 0,67 ± 0,18 | 0,50 ± 0,13 | 0,41 ± 0,05 |
| 20 : 3 (n-6) | Eicosatrienóico | 0,56 ± 0,28 | 0,39 ± 0,08 | 0,84 ± 0,17 | 0,95 ± 0,25 |
| 20 : 4 (n-6) | Araquidônico | 2,32 ± 0,29 | 1,90 ± 0,68 | 16,38 ± 3,13 | 15,27 ± 2,04 |
| 20 : 5 (n-3) | Eicosapentaenóico | — | — | 0,34 ± 0,08 | 0,28 ± 0,18 |
| 22 : 5 (n-6) | Docosapentaenóico | — | — | 0,59 ± 0,10 | 0,76 ± 0,22 |
| 22 : 5 (n-3) | Docosapentaenóico | — | — | 0,72 ± 0,19 | 0,63 ± 0,16 |
| 22 : 6 (n-3) | Docosahexaenóico | — | — | 3,72 ± 0,83 | 3,89 ± 0,56 |
| n.i. | Não identificados | 0,61 ± 0,16 | 0,74 ± 0,05 | 0,49 ± 0,36 | 0,46 ± 0,15 |
| | Saturados | 33,86 ± 6,59 | 28,71 ± 3,18 | 46,39 ± 4,12 | 44,99 ± 2,79 |
| | Monoinsaturados | 26,57 ± 3,33 | 31,18 ± 2,24 | 12,62 ± 1,87 | 15,70 ± 1,40 |
| Totais | Polinsaturados | 39,57 ± 3,34 | 40,11 ± 1,66 | 40,80 ± 6,24 | 39,31 ± 3,09 |
| | n-3 | 1,55 ± 0,22 | 0,96 ± 0,44 | 5,28 ± 0,81 | 5,18 ± 0,85 |
| | n-6 | 37,30 ± 3,16 | 38,47 ± 1,63 | 35,02 ± 5,47 | 33,73 ± 2,92 |
| | n-6/n-3 | 24,32 ± 2,11 | 49,53 ± 27,43 | 6,64 ± 0,61 | 6,66 ± 1,27 |

Tabela 1 - Teores de ácidos graxos em tecido hepático e mamário de ratas lactantes que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 5) e das que receberam veículo (LV, n = 5) durante a última semana de gestação. As ratas foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3). Os dados obtidos são apresentados em % Área e representam a média e o desvio padrão.

5 - DISCUSSÃO

Sabe-se que o aumento dos níveis circulantes de TG e colesterol é normal em fêmeas prenhes, principalmente no terço final da gestação. Isso se deve a um rearranjo metabólico complexo que depende da participação de vários tecidos. Já foi demonstrado que em mulheres grávidas ocorre aumento de 2 a 4 vezes nos níveis de TG circulante e o colesterol pode chegar a aumentar em até 50% (53). A lactação, por sua vez, é uma janela temporal em que os níveis maternos de TG reduzem para valores pré-gestação (54).

Já é sabido também que o tratamento com glicocorticoide pode aumentar a lipólise em coxins de tecidos adiposos subcutâneos, por um aumento da expressão e consequente atividade da lipase lipoprotéica e consequentemente dos níveis circulantes de ácidos graxos no sangue (55). Esta modulação resulta em desvio de ácidos graxos para coxins abdominais, resultado em aumento do peso relativo destes coxins (53).

Por outro lado, há trabalhos que demonstram que os glicocorticoides também exercem uma ação capaz de aumentar também os níveis de TG circulantes (56). Neste trabalho demonstramos que houve aumento nos níveis de TG circulantes no terceiro e oitavo dias após o parto e de colesterol no oitavo e decimo quarto dias após o parto nas fêmeas LD em relação aos outros grupos, ou seja, o tratamento com dexametasona reverteu o efeito da lactação sobre a redução dos níveis de triglicerídeos circulantes.

Outro achado interessante está relacionado ao ganho de peso das fêmeas no período de lactação. Isso pode ser explicado devido a ação de polifagia que os corticoides exercem atrelada a lactação, um processo que precisa de muita energia para acontecer, por isso ambos os grupos de lactantes apresentam ganho de peso quando comparados as fêmeas controles e as LD apresentam maior ganho ainda quando comparadas as LV (33, 44).

É sabido que altos níveis de glicocorticoides podem induzir de forma muito intensa a gliconeogênese hepática e a diminuição da captação da glicose nos tecidos

periféricos (1), além disso ocorre mobilização da gordura da periferia em direção ao fígado o que explica então os níveis aumentados de TG e colesterol das fêmeas submetidas ao estresse metabólico com o tratamento com a dexametasona.

Os glicocorticoides interferem em mecanismos complexos de controle do metabolismo energético, por exemplo causando alterações na ação e secreção da insulina (55). Um desses mecanismos ocorre no fígado onde os glicocorticoides aumentam a produção endógena de glicose através da ativação de vários genes envolvidos no metabolismo de carboidratos, sendo as principais drogas envolvidas na chamada diabetes induzida por esteroides (2,3).

Porém, em nosso estudo os níveis de glicose não foram diferentes entre os grupos em L3 e L8. Este resultado é corroborado por um estudo anterior (57), demonstrando que ao final da gestação, mais precisamente no 20^o dia, as ratas gestantes LV e LD tem níveis de glicose iguais, não havendo diferença inclusive para o grupo CTL (tratadas ou não com a dexametasona). O mesmo padrão, ou seja, glicemia igual entre os grupos CTL, LD e LV foi observado também após seis meses do nascimento das proles.

Estes níveis se devem a uma hiperinsulinemia compensatória, no caso dos animais LD, sabe-se que essas drogas possuem uma ação indireta nas ilhotas pancreáticas favorecendo hipersecreção de insulina (58). No caso de animais gestantes, sabe-se que ocorre um aumento da massa de células beta, síntese e secreção de insulina estimulada por glicose em ratos (45). Além disso, alterações endócrinas como altos níveis de prolactina e lactogênio placentário circulantes causam favorecimento da função endócrinas do pâncreas (59). Todas essas alterações endócrinas causadas pela gestação ou administração de glicocorticoides contribuem para a manutenção de níveis de glicemia iguais entre os grupos.

No 14^o dia de lactação, observou-se que as ratas LD e LV não mostraram diferenças entre si no que diz respeito aos níveis glicêmicos. Porém, quando estes dois grupos foram comparados com as fêmeas do grupo CTL, foram observados níveis glicêmicos significativamente mais baixos. Isso nos motivou a pensar que níveis glicêmicos menores nas fêmeas lactantes é visto por conta da utilização de glicose para

o processo de produção de leite, já que durante a lactação ocorre um rearranjo do metabolismo energético com o objetivo de beneficiar este processo e favorecer a produção de leite (60).

A fim de identificar a origem do aumento dos níveis de TG nas fêmeas LD, avaliamos a produção hepática de VLDL. Já foi descrito que o VLDL aumenta de forma linear durante os dois primeiros terços da gestação e de forma exponencial no terço final (52, 54). Nossos resultados indicam que o tratamento com glicocorticoides aumenta os níveis de TG circulante na lactação, pelo menos em parte, por exacerbação da produção hepática de VLDL.

Na medida em que o fígado tem papel central na síntese e secreção de TG, investigamos inicialmente possíveis alterações nas reservas hepáticas de TG. A análise de perfil lipídico hepático mostrou que não houve diferenças nos níveis de TG e colesterol nas fêmeas LD em relação ao grupo CTL e em relação as fêmeas LV, tanto no terceiro quanto no oitavo dias de lactação. Perfil semelhante foi demonstrado por Motta et. al (61), que encontraram aumento nos níveis de glicogênio hepático e de volume do fígado, porém sem alteração no conteúdo de TG hepático induzido pela dexametasona ou pela gravidez. O mesmo foi observado por Hecht et. all (44) onde não houve diferença nos conteúdos hepáticos de TG e colesterol entre os grupos de lactantes LD e LV e o grupo CTL no terceiro dia de lactação.

A diferença entre os dados do TG circulante (maior em LD) e do TG encontrado no fígado (igual para todos os grupos) sugere que o aumento da trigliceridemia pode decorrer de menor captação de TG pelos tecidos extra-hepáticos e/ou a maior secreção de TG pelo fígado (na forma de VLDL) ou pelos enterócitos (na forma de quilomícron). Neste sentido, o aumento na concentração de TG circulante após inibição da LPL pelo Tyloxapol, observado no grupo LD quando comparado com o grupo LV, indica maior produção hepática de VLDL. Este achado é corroborado por dados previamente publicados (44).

A fim de avaliar a cinética de secreção de TG em decorrência de disponibilidade oral de ácidos graxos, realizamos o teste de administração de azeite por via oral. Observou-se que os níveis de TG circulante das fêmeas LD foram significativamente

superiores após 3 horas da ingestão do azeite. Esses achados são similares a resultados previamente descritos (44), onde após o desafio com azeite observou-se aumento dos níveis de TG circulante após 90 e 180 minutos nas fêmeas LD em relação ao grupo LV e ao grupo CTL. Este resultado sugere que a rata LD pode potencialmente apresentar maior produção de quilomícrons.

O aumento na secreção hepática e a redução na extração generalizada de TG poderia direcionar o aporte energético do leite para nutrir a prole. (62). Entretanto, o baixo ganho de peso da prole sugere que o aumento do TG circulante da LD não se traduz em aumento da concentração de TG no leite.

Com posse desses dados foram realizados experimentos para verificar a expressão de genes relacionados a síntese e secreção de VLDL. Foi observado que não houve diferença na expressão dos genes da proteína microsomal de transferência de triglicerídeos (Mttp), Apolipoproteína B (ApoB) e do receptor SNAP SEC22 (Sec22) no terceiro dia de lactação (L3) (apêndice) nas ratas LD e das LV. Foram pesquisadas também a expressão gênica de duas enzimas importantes para a produção de ácidos graxos através da via da lipogênese de novo. Tais enzimas, ácido graxo sintase (Fasn) e enzima málica 1 (Me1), estavam expressas de forma semelhante nos dois grupos em lactação no terceiro dia (L3). Por último, observou-se que conteúdo de proteína CD36, responsável por translocação de ácidos graxos, também não teve alteração entre os grupos (Fig 10).

Esses dados corroboram com o encontrado na literatura, onde já foi mostrado que ratas LD ao final da gestação, não tem diferença na expressão dos genes relacionados a produção de VLDL e da lipogênese *de novo* (Mttp, ApoB, Sec 22, Fasn e Me1) quando comparadas as ratas LV no terceiro dia de lactação (44).

Se a modulação causada pelo corticoide no fígado fosse a causa principal do aumento nos níveis circulantes de TG das ratas tratadas com dexametasona em relação ao grupo não tratado, o que se esperaria eram níveis maiores da expressão desses genes, visto que eles estão relacionados diretamente ao aumento dos níveis de lipídios circulantes e doenças sistêmicas causadas por tais níveis elevados (56).

Como o metabolismo hepático, a princípio, parece não ser o responsável pelo aumento dos níveis de TG circulantes a próxima hipótese foi verificar então o papel das glândulas mamárias neste processo e se havia alguma alteração na composição do leite das fêmeas tratadas com dexametasona.

Já foi descrito na literatura que um baixo aumento nos níveis circulantes de TG em ratas após a administração de Tyloxapol, pode ser devido a alterações no metabolismo desses lipídios no tecido mamário, a saber, uma inibição ineficiente da lipoproteína lipase (LPL) neste tecido (63).

Além disso, sabe-se que durante o período gestacional, o metabolismo da fêmea passa por diversas alterações para favorecer o desenvolvimento fetal e preparar o organismo para a lactação. Tais alterações incluem aumento da gordura visceral, aumento da produção de insulina, aumento da resistência a insulina e aumento dos níveis circulantes de lipídios (63, 64).

O período de lactação é também um período de reorganização e alterações metabólicas, com o objetivo de produzir o leite para a nutrição dos filhotes, favorecido por um enriquecimento calórico do mesmo. Sabe-se que o organismo da fêmea lactante passa por adaptações no tecido adiposo branco, fígado, musculatura esquelética e principalmente glândula mamária (65).

Por isso, foram realizados experimentos para se verificar os níveis de TG e colesterol, tanto no leite, quanto no tecido mamário dos dois grupos de lactantes nos dias L3 e L8 da lactação. Foi observado que no grupo LD houve maior concentração de TG tanto em L3 quanto em L8 quando comparado ao grupo LV e em relação ao colesterol, observou-se aumento do mesmo em L8 no grupo LD.

Esses achados estão de acordo com vários trabalhos da literatura que mostram o papel do tecido mamário, principalmente no pós-parto e lactação em relação ao metabolismo de lipídios (57, 66). Embora os mecanismos moleculares que contribuem com o aumento dos níveis de TG durante a gestação são amplamente estudados, existe muito o que entender sobre as adaptações no metabolismo lipídico

da fêmea que ocasionam o aumento dos níveis circulantes de lipídios durante gravidez. (67) e lactação.

Vários estudos já foram conduzidos em humanos mostrando a relação entre os altos níveis de lipídios circulantes na gestação e a lactação. Em humanos, sabe-se que aproximadamente 98% das gorduras encontradas no leite são triglicerídeos, já no leite das ratas cerca de 74% das calorias encontradas no leite são provenientes de gordura (62).

A lactação tem um papel importantíssimo em relação ao metabolismo energético da fêmea lactante. Já foi demonstrado que mulheres que amamentam retornam a níveis normais de TG e colesterol até 13 semanas antes que mulheres que não amamentam (68, 69). Já foi identificada também uma correlação protetora entre amamentação e aumento dos níveis de HDL e conseqüentemente uma queda dos lipídios circulantes. (70, 71, 72).

Os nossos resultados indicam que o metabolismo lipídico que ocorre no tecido mamário é influenciado pela ação do glicocorticoide, visto que nos animais LD ocorre um acúmulo maior de TG e colesterol no referido tecido, o que não aconteceu com as concentrações desses lipídios no leite. Já sobre as concentrações de TG e colesterol no leite, foi observado que não houve diferença na concentração de colesterol e nenhum dia o grupo sem o tratamento com dexametasona exibiu maior concentração de TG em L3, em L8 não houve diferença.

Foi encontrado em ratas LD, no terceiro dia de lactação, maiores concentrações de TG (cerca de 91% a mais) quando comparadas com ratas não tratadas com dexametasona também no terceiro dia de gestação (44).

Com isso pôde-se perceber que o tratamento com a dexametasona, influencia não só as concentrações sanguíneas de TG, mas a presença deste no tecido mamário. Mesmo tendo maior concentração de TG e colesterol (L8) no tecido da glândula mamaria das ratas LD, esse conteúdo lipídico não está chegando até o leite, pois as concentrações de TG em L3 nas ratas sem o tratamento foram maiores.

Para procurar entender o que estaria acontecendo, foi verificado se o tratamento realizado com a dexametasona causava alguma mudança na temperatura da região da glândula mamaria, do tecido adiposo marrom e se a perda de calor pela cauda de alguma forma poderia afetar o fluxo sanguíneo naquele tecido e a consequente incorporação do TG da glândula mamaria no leite produzido.

Sabe-se que ratas lactantes mobilizam de forma muito eficiente suas reservas de gorduras para produção do leite, causando até diminuição do tamanho de adipócitos durante esse processo. O fluxo sanguíneo da região também aumenta, causando aumento da temperatura na região. (73, 74, 75)

Porém, nossos resultados demonstram que não há diferenças entre os grupos de lactantes no que diz respeito a temperatura do tecido mamário, a proporção de tecido adiposo marrom e a perda de calor pela cauda que foram encontrados, conforme mostrado no apêndice 2, ou seja, o tratamento com dexametasona não altera os parâmetros observados.

Sabe-se que o leite materno é uma importante ferramenta de nutrição e defesa para o recém-nascido. Sua composição é variável e, de forma geral, o organismo procura atender as necessidades do filhote de acordo com seu desenvolvimento. As gorduras são a principal fonte de energia encontradas no leite, principalmente os triglicerídeos, porém existem também os diacilglicerídeos, monoacilglicerídeos, ácidos graxos livres, fosfolípidios e colesterol (73).

Por isso o próximo passo foi verificar também a composição do leite de ambos os grupos de lactantes com o objetivo de ver se o tratamento com dexametasona, de alguma forma, alterava a composição dos ácidos graxos. A análise dos teores de ácidos graxos do leite não demonstrou diferença significativa entre as fêmeas pré-tratadas com dexametasona e as que receberam veículo. A cromatografia dos tecidos hepáticos e da glândula mamaria dos grupos lactantes também não apresentou nenhuma diferença significativa.

É sabido que mudanças no padrão de expressão gênica permitem que as células do tecido mamário passem de proliferação para diferenciação ou, alternativamente,

morrão por apoptose, afetando assim a função da glândula mamária. Geralmente, a expressão gênica é rigidamente controlada por fatores extracelulares, como hormônios, fatores de crescimento, fatores de diferenciação, fatores de sobrevivência, fatores de morte, dentre outros (74).

Para procurar entender o que possivelmente estaria acontecendo na glândula mamaria foram feitos também vários testes de expressão gênica de fatores importantes relacionados ao metabolismo lipídico, transporte de lipídios do sangue para o tecido mamário e deste para o leite.

Sabe-se que os glicocorticoides têm um papel importante nas alterações que ocorrem no tecido mamário e influenciam o processo de desenvolvimento deste tecido, a lactação e até a regressão das glândulas mamarias no pós desmame. Sendo todas essas funções mediadas por seus receptores, que pertencem ao grupo de receptores nucleares, que atuam estimulando ou inibindo a expressão genica. (75)

Verificamos então que não houve diferença na expressão da proteína Cd36, enzima málica tipo 1 (Me1), na frutose-1,6-bisfosfatase (FBP1), nos ativadores de morte celular (CIDE-A e CIDE-B), na osfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), na diacilglicerol O-aciltransferase 2 (DGAT-2) e na subunidade de proteína translocase D (SecD).

As diferenças encontradas entre os grupos LD e LV, ocorreram somente em L3, onde o grupo não tratado apresentou maiores concentrações de lipoproteína lipase (LPL) importante enzima que hidrolisa os triglicerídeos das lipoproteínas. O grupo não tratado apresentou também maior expressão da A acetil-CoA carboxilase (ACC), uma enzima que catalisa a carboxilação da acetil-CoA para formar malonil-CoA, um substrato intermediário que desempenha um papel fundamental na regulação do metabolismo dos ácidos graxos. Por último, foi encontrada maior expressão da enzima ácido graxo sintase (Fasn), como dito anteriormente, importante para a produção de lipídios através da via da lipogênese *de novo*.

Acredita-se que tais alterações favorecem uma maior incorporação de TG ao leite das fêmeas que não receberam a dexametasona favorecendo então maiores concentrações de TG no leite delas.

Essas alterações no metabolismo lipídico e da lactação das fêmeas tratadas com dexametasona, tem impacto direto no que diz respeito ao peso e desenvolvimento da prole. Pode-se observar que em L3 a prole dos nascidos de mães LV possuem concentrações circulantes mais altas de TG, o que reflete diretamente a concentração de lipídios no leite dessas mães.

Em L8, houve um aumento nos níveis de TG das proles dos dois grupos e o grupo de filhotes das fêmeas LD apresentou um aumento significativo dos níveis de TG e colesterol em relação a prole de mães LV. Nos demais dias de observação percebeu-se uma oscilação e concentrações de TG e colesterol parecidas entre os grupos.

Outro dado importante diz respeito a evolução ponderal do peso das proles dos diferentes grupos de mães LD e LV. Pode-se observar que os filhotes de mães LD, nascem com menor peso e ganham menos peso que os filhotes de mães LV até 21 dias.

Todas as alterações na prole são muito bem evidenciadas na literatura sendo demonstrado que o uso de corticoides no terço final da gestação favorece uma maior chance de morte dos filhotes (58), restrição do crescimento intra-uterino (76, 77), podendo ate mesmo incluir déficits no desenvolvimento de órgãos como rins, cérebro e coração (78,79)

6- CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto, que a administração de corticoide (dexametasona) em modelo animal favorece um aumento dos níveis de triglicerídeos e colesterol circulantes. Esse aumento não está relacionado com alterações da função hepática, mas sim com alterações no tecido mamário. A glândula mamaria das fêmeas tratadas com dexametasona parece não incorporar os lipídios circulantes ao leite, por causa de uma diminuição na expressão dos genes da Acetil-coa carboxilase (ACC), Fasn (Ácido graxo sintase) e Lipase lipoproteica (LPL)

Todo esse contexto favorece com que a prole de mães que receberam a dexametasona, nasça levemente menos pesada que a prole de uma fêmea não tratada com dexametasona e ganha menos peso nas semanas iniciais de vida, o que pode ser um fator de risco para a vida desses animais.

7- REFERÊNCIAS

1. Bhatia P, Chhabra S. Physiological and anatomical changes of pregnancy: Implications for anaesthesia. *Indian J Anaesth.* 2018 Sep;62(9):651-657.
2. Villar J, Cogswell M, Kestler E, Castillo P, Menendez R, Repke JT. Effect of fat and fat-free mass deposition during pregnancy on birth weight. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167(5):1344-52.
3. Gaiser R. Physiologic changes of pregnancy. In: Chestnut DH, Wng CA, Tsen LC, Ngan Kee WD, Beilin Y, Mhyre JM, et al., editors. *Chestnut's Obstetric Anesthesia: Principles and Practice.* 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. p. 15-38.
4. Robson SC, Hunter S, Boys RJ, Dunlop W. Serial study of factors influencing changes in cardiac output during human pregnancy. *Am J Physiol* 1989;256:H1060-5.
5. Ouzounian JG, Elkayam U. Physiologic changes during normal pregnancy and delivery. *Cardiol Clin.* 2012 Aug;30(3):317-29.
6. Soma-Pillay P, Nelson-Piercy C, Tolppanen H, Mebazaa A. Physiological changes in pregnancy. *Cardiovasc J Afr.* 2016 Mar-Apr;27(2):89-94.
7. LoMauro A, Aliverti A. Respiratory physiology of pregnancy: Physiology masterclass. *Breathe (Sheff)* 2015;11:297-301.
8. Silva de Araujo Figueiredo C, Gonçalves Carvalho Rosalem C, Costa Cantanhede AL, Abreu Fonseca Thomaz ÉB, Fontoura Nogueira da Cruz MC. Systemic alterations and their oral manifestations in pregnant women. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017 Jan;43(1):16-22.
9. Shah S, Nathan L, Singh R, Fu YS, Chaudhuri G. E2 and not P4 increases NO release from NANC nerves of the gastrointestinal tract: Implications in pregnancy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280:R1546-54.
10. Whitehead EM, Smith M, Dean Y, O'Sullivan G. An evaluation of gastric emptying times in pregnancy and the puerperium. *Anaesthesia* 1993;48:53-7.

11. Igarashi T, Hirabayashi Y, Shimizu R, Saitoh K, Fukuda H, Suzuki H, et al. The fiberoptic findings of the epidural space in pregnant women. *Anesthesiology* 2000;92:1631-6.
12. Cheung KL, Lafayette RA. Renal physiology of pregnancy. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2013 May;20(3):209-14.
13. Tan EK, Tan EL. Alterations in physiology and anatomy during pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2013 Dec;27(6):791-802.
14. Semmar N, Simon N. Review in pharmacokinetic models on corticosteroids. *Mini Rev Med Chem*. 2006 Apr;6(4):417-28.
15. Kapugi M, Cunningham K. Corticosteroids. *Orthop Nurs*. 2019 Sep/Oct;38(5):336-339.
16. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Corticosteroids: Mechanisms of Action in Health and Disease. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016 Feb;42(1):15-31, vii.
17. Busada JT, Cidlowski JA. Mechanisms of Glucocorticoid Action During Development. *Curr Top Dev Biol*. 2017;125:147-170.
18. Vandewalle J, Luybaert A, De Bosscher K, Libert C. Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids. *Trends Endocrinol Metab*. 2018 Jan;29(1):42-54.
19. Tanaka H, Hirano F, Nomura Y, et al. Relative glucocorticoid potency revisited. *Rheumatol Int*. 1994;14:9-12.
20. Axelrod L. Corticosteroid therapy. In: Becker KL, ed. *Principles and practice of endocrinology and metabolism*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:751-764.
21. Stacey SK, McEleney M. Topical Corticosteroids: Choice and Application. *Am Fam Physician*. 2021 Mar 15;103(6):337-343.
22. Olafsen NP, Herring SA, Orchard JW. Injectable Corticosteroids in Sport. *Clin J Sport Med*. 2018 Sep;28(5):451-456.

23. Freire V, Bureau NJ. Injectable Corticosteroids: Take Precautions and Use Caution. *Semin Musculoskelet Radiol*. 2016 Nov;20(5):401-408.
24. Sastre J, Mosges R. Local and systemic safety of intranasal corticosteroids. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(1):1-12.
25. Walter E, Dellago H, Grillari J, Dimai HP, Hackl M. Cost-utility analysis of fracture risk assessment using microRNAs compared with standard tools and no monitoring in the Austrian female population. *Bone*. 2018 Mar;108:44-54.
26. Caplan A, Fett N, Rosenbach M, Werth VP, Micheletti RG. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: A comprehensive review: A review of glucocorticoid pharmacology and bone health. *J Am Acad Dermatol*. 2017 Jan;76(1):1-9.
27. Adler RA, Curtis JR, Saag K, Weinstein RS. Glucocorticoid-induced osteoporosis. In: Marcus R, Feldman D, Nelsen DA, Rosen CJ, eds. *Osteoporosis*. 3rd ed. San Diego (CA): Elsevier-Academic Press; 2008:1135-1166.
28. Van Staa TP. The pathogenesis, epidemiology and management of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 2006;79:129-137.
29. Caplan A, Fett N, Rosenbach M, Werth VP, Micheletti RG. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: A comprehensive review: Ocular, cardiovascular, muscular, and psychiatric side effects and issues unique to pediatric patients. *J Am Acad Dermatol*. 2017 Feb;76(2):201-207.
30. Loeb JN. Corticosteroids and growth. *N Engl J Med*. 1976 Sep 2;295(10):547-52.
31. Buchman AL. Side effects of corticosteroid therapy. *J Clin Gastroenterol*. 2001 Oct;33(4):289-94.
32. Warrington TP, Bostwick JM. Psychiatric adverse effects of corticosteroids. *Mayo Clin Proc*. 2006 Oct;81(10):1361-7.
33. Rosen CM. Corticosteroids. *Pediatr Rev*. 2019 Oct;40(10):546-548.

34. Mehta AB, Nadkarni NJ, Patil SP, Godse KV, Gautam M, Agarwal S. Topical corticosteroids in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2016 Jul-Aug;82(4):371-8.
35. Ramadan AA, Gaffin JM, Israel E, Phipatanakul W. Asthma and Corticosteroid Responses in Childhood and Adult Asthma. *Clin Chest Med*. 2019 Mar;40(1):163-177.
36. Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 Mar 15;335(1):2-13.
37. Barnes PJ. Glucocorticosteroids. *Handb Exp Pharmacol*. 2017;237:93-115.
38. Schoenle LA, Zimmer C, Miller ET, Vitousek MN. Does variation in glucocorticoid concentrations predict fitness? A phylogenetic meta-analysis. *Gen Comp Endocrinol*. 2021 Jan 1;300:113611.
39. Esche J, Shi L, Hartmann MF, Schönau E, Wudy SA, Remer T. Glucocorticoids and Body Fat Inversely Associate With Bone Marrow Density of the Distal Radius in Healthy Youths. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019 Jun 1;104(6):2250-2256.
40. Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN, Bleker OP. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351:173–7, 1998.
41. Seckl JR, Meaney MJ. Glucocorticoid programming. *Ann NY Acad Sci* 1032: 63–84, 2004.
42. Bréant B, Gesina E, Blondeau B. Nutrition, glucocorticoids and pancreas development. *Horm Res* 65:98–104, 2006.
43. Schwitzgebel VM, Somm E, Klee P. Modeling intrauterine growth retardation in rodents: impact on pancreas development and glucose homeostasis. *Mol Cell Endocrinol* 304: 78–83, 2009.
44. Hecht FB, Teixeira CJ, de Souza DN, Mesquita FPN, Roso REDV, Sodr e FS, Veronesi VB, da Rocha DF, Menezes YGD, Pioli MR, Bordin S, Cecatti JG, Luz AG, Anh e GF. Antenatal corticosteroid therapy modulates hepatic AMPK

- phosphorylation and maternal lipid metabolism in early lactating rats. *Biomed Pharmacother.* 2021 Dec;144:112355.
45. Gomes PR, Graciano MF, Pantaleão LC, Rennó AL, Rodrigues SC, Velloso LA, Latorraca MQ, Carpinelli AR, Anhe GF, Bordin S. Long-term disruption of maternal glucose homeostasis induced by prenatal glucocorticoid treatment correlates with miR-29 upregulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 306:E109-20, 2014.
 46. Król E, Martin SA, Huhtaniemi IT, Douglas A, Speakman JR. *J Exp Biol.* 2011 Dec 15;214(Pt 24):4160-70.
 47. Davis KR, Giesy SL, Long Q, Krumm CS, Harvatine KJ, Boisclair YR. XBP1 Regulates the Biosynthetic Capacity of the Mammary Gland During Lactation by Controlling Epithelial Expansion and Endoplasmic Reticulum Formation. *Endocrinology.* 2016 Jan;157(1):417-28.
 48. Paul HA, Hallam MC, Reimer RA. Milk Collection in the Rat Using Capillary Tubes and Estimation of Milk Fat Content by Creamatocrit. *J Vis Exp.* 2015(106):e53476.
 49. Pantaleão LC, Murata G, Teixeira CJ, Payolla TB, Santos-Silva JC, Duque-Guimaraes DE, Sodr e FS, Lellis-Santos C, Vieira JC, de Souza DN, Gomes PR, Rodrigues SC, Anhe GF, Bordin S. Prolonged fasting elicits increased hepatic triglyceride accumulation in rats born to dexamethasone-treated mothers. *Sci Rep.* 2017 Sep 4;7(1):10367.
 50. Sasase T, Morinaga H, Yamamoto H, Ogawa N, Matsui K, Miyajima K, Kawai T, Mera Y, Masuyama T, Shinohara M, Ohta T, Matsushita M. Increased fat absorption and impaired fat clearance cause postprandial hypertriglyceridemia in Spontaneously Diabetic Torii rat. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007 Oct;78(1):8-15.
 51. Sasase T, Morinaga H, Yamamoto H, Ogawa N, Matsui K, Miyajima K, Kawai T, Mera Y, Masuyama T, Shinohara M, Ohta T, Matsushita M. Increased fat absorption and impaired fat clearance cause postprandial hypertriglyceridemia in Spontaneously Diabetic Torii rat. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007 Oct;78(1):8-15.
 52. *Official Methods of Analysis of AOAC.* 18. ed., Gaithersburg: AOAC International, 2005.

53. Knopp RH, Warth MR, Charles D, Childs M, Li JR, Mabuchi H, Van Allen MI. Lipoprotein metabolism in pregnancy, fat transport to the fetus, and the effects of diabetes. *Biol Neonate*. 1986;50(6):297-317.
54. Anhê GF, Bordin S. The adaptation of maternal energy metabolism to lactation and its underlying mechanisms. *Mol Cell Endocrinol*. 2022 Aug 1;553:111697.
55. Peckett AJ, Wright DC, Riddell MC. The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism. *Metabolism*. 2011 Nov;60(11):1500-10.
56. Fu J, Ma S, Li X, An S, Li T, Guo K, Lin M, Qu W, Wang S, Dong X, Han X, Fu T, Huang X, Wang T, He S. Long-term Stress with Hyperglucocorticoidemia-induced Hepatic Steatosis with VLDL Overproduction Is Dependent on both 5-HT₂ Receptor and 5-HT Synthesis in Liver. *Int J Biol Sci*. 2016 Jan 1;12(2):219-34.
57. Herrera E, Lasunción MA, Gomez-Coronado D, Aranda P, López-Luna P, Maier I. Role of lipoprotein lipase activity on lipoprotein metabolism and the fate of circulating triglycerides in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1988 Jun;158(6 Pt 2):1575-83.
58. Novelli M, De Tata V, Bombara M, Lorenzini A, Masini M, Pollera M, Bergamini E, Masiello P. Insufficient adaptive capability of pancreatic endocrine function in dexamethasone-treated ageing rats. *J Endocrinol*. 1999 Sep;162(3):425-32.
59. SORENSON RL AND BRELJE TC. 1997. Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: beta-cell growth, enhanced insulin secretion and the role of lactogenic hormones. *Horm Metab Res* 29: 301-307.
60. Beaupere C, Liboz A, Fève B, Blondeau B, Guillemain G. Molecular Mechanisms of Glucocorticoid-Induced Insulin Resistance. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 9;22(2):623.
61. Motta K, Gomes PRL, Sulis PM, Bordin S, Rafacho A. Dexamethasone Administration During Late Gestation Has No Major Impact on Lipid Metabolism, but Reduces Newborn Survival Rate in Wistar Rats. *Front Physiol*. 2018 Jul 3;9:783.

62. Stuebe AM, Rich-Edwards JW. The reset hypothesis: lactation and maternal metabolism. *Am J Perinatol*. 2009 Jan;26(1):81-8. doi: 10.1055/s-0028-1103034. Epub 2008 Nov 21.
63. Canfrán-Duque A, Lin CS, Goedeke L, Suárez Y, Fernández-Hernando C. Micro-RNAs and High-Density Lipoprotein Metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016 Jun;36(6):1076-84
64. A.E. Tedstone, V. Ilic, D.H. Williamson, Evidence that use of Triton WR1339 underestimates the triacylglycerol entry rate into the plasma of lactating rats owing to continued accumulation of lipid in the mammary gland, *Biochem. J*. 272 (1990) 835–838.
65. Dall SR, Boyd IL. Evolution of mammals: lactation helps mothers to cope with unreliable food supplies. *Proc Biol Sci* 2004;271:2049–2057.
66. Einstein FH, Fishman S, Muzumdar RH, et al. Accretion of visceral fat and hepatic insulin resistance in pregnant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;294:E451–E455.
67. Zeng Z, Liu F, Li S. Metabolic Adaptations in Pregnancy: A Review. *Ann Nutr Metab*. 2017;70(1):59-65.
68. Herrera E, Gómez-Coronado D, Lasunción MA. Lipid metabolism in pregnancy. *Biol Neonate*. 1987;51(2):70-7.
69. Darmady JM, Postle AD. Lipid metabolism in pregnancy. *Br J ObstetGynaecol* 1982;89(3):211–5.
70. Xue W, Deng Y, Wang YF, Sun AJ: Effect of half-dose and standard-dose conjugated equine estrogens combined with natural progesterone or dydrogesterone on components of metabolic syndrome in healthy postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Chin Med J (Engl)* 2016; 129: 2773–2779.
71. Skvarca A, Tomazic M, Blagus R, Krhin B, Janez A: Adiponectin/leptin ratio and insulin resistance in pregnancy. *J Int Med Res* 2013; 41: 123–128.

72. Shao J, Catalano PM, Yamashita H, Ruyter I, Smith S, Youngren J, Friedman JE: Decreased insulin receptor tyrosine kinase activity and plasma cell membrane glycoprotein-1 overexpression in skeletal muscle from obese women with gestational diabetes mellitus (GDM): evidence for increased serine/threonine phosphorylation in pregnancy and GDM. *Diabetes* 2000; 49: 603–610.
73. Marti A, Lazar H, Ritter P, Jaggi R. Transcription factor activities and gene expression during mouse mammary gland involution. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 1999 Apr;4(2):145-52.
74. Reichardt HM, Horsch K, Gröne HJ, Kolbus A, Beug H, Hynes N, Schütz G. Mammary gland development and lactation are controlled by different glucocorticoid receptor activities. *Eur J Endocrinol*. 2001 Oct;145(4):519-27.
75. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev*. 2015 Nov;91(11):629-35.
76. Emgård, M., Paradisi, M., Pirondi, S., Fernandez, M., Giardino, L., and Calzà, L. (2007). Prenatal glucocorticoid exposure affects learning and vulnerability of cholinergic neurons. *Neurobiol. Aging* 28, 112–121
77. Kauffman, K. S., Seidler, F. J., and Slotkin, T. A. (1994). Prenatal dexamethasone exposure causes loss of neonatal hypoxia tolerance: cellular mechanisms. *Pediatr. Res.* 35, 515–522.
78. Nyirenda, M. J., Lindsay, R. S., Kenyon, C. J., Burchell, A., and Seckl, J. R. (1998). Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression. and causes glucose intolerance in adult offspring. *J. Clin. Invest.* 15, 2174–2181.
79. Singh, R. R., Cuffe, J. S., and Moritz, K. M. (2012). Short- and long-term effects of exposure to natural and synthetic glucocorticoids during development. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 39, 979–989.
80. AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS - ACOG. Committee on Obstetric Practice. Committee Opinion n°713. Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. *Obstet. Gynecol.*, v.130, n.2, p.e102-e109, 2017.

8 – APÊNDICES

APÊNDICE 1 - Análise da temperatura do tecido adiposo marrom, glândula mamária e perda de calor pela cauda

A figura 12 mostra um painel de análises relacionadas a possíveis mudanças de temperatura na região da glândula mamária, o que poderia explicar o porquê de haver maiores concentrações de TG no tecido mamário das ratas LD em detrimento de menores concentrações de TG no leite dessas ratas. Porém, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos LD e LV quando se analisou a temperatura do tecido adiposo marrom (A), a temperatura da glândula mamária (B) e a perda de calor pela cauda (C).

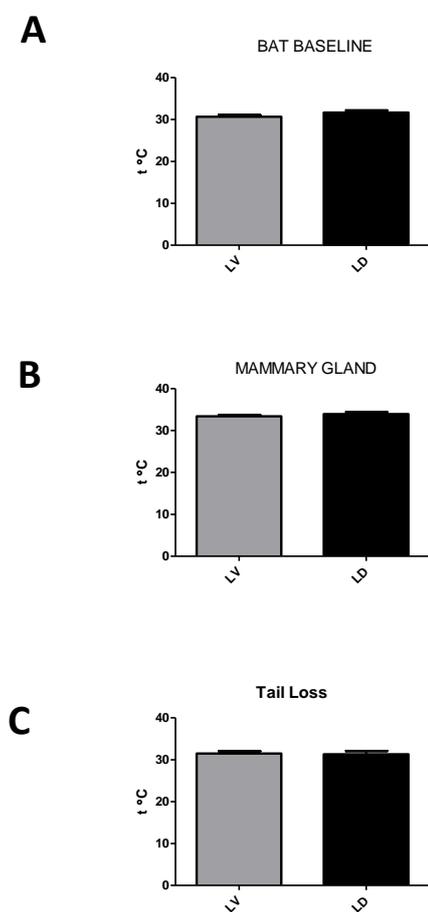


Figura 12 – Análise da temperatura do tecido adiposo marrom, glândula mamária e perda de calor pela cauda em ratas lactantes que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação. As ratas foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3). Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 8 animais.

APÊNDICE 2 - Análise da temperatura corporal com câmera térmica

A figura 13 mostra um painel de análises da temperatura corporal de ratas lactantes LD (A e C) e LV (B e D) na região da glândula mamária e dorso realizadas no terceiro dia de lactação (L3) com auxílio de câmera térmica. Porém, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos LD e LV quando se analisaram os parâmetros descritos anteriormente.

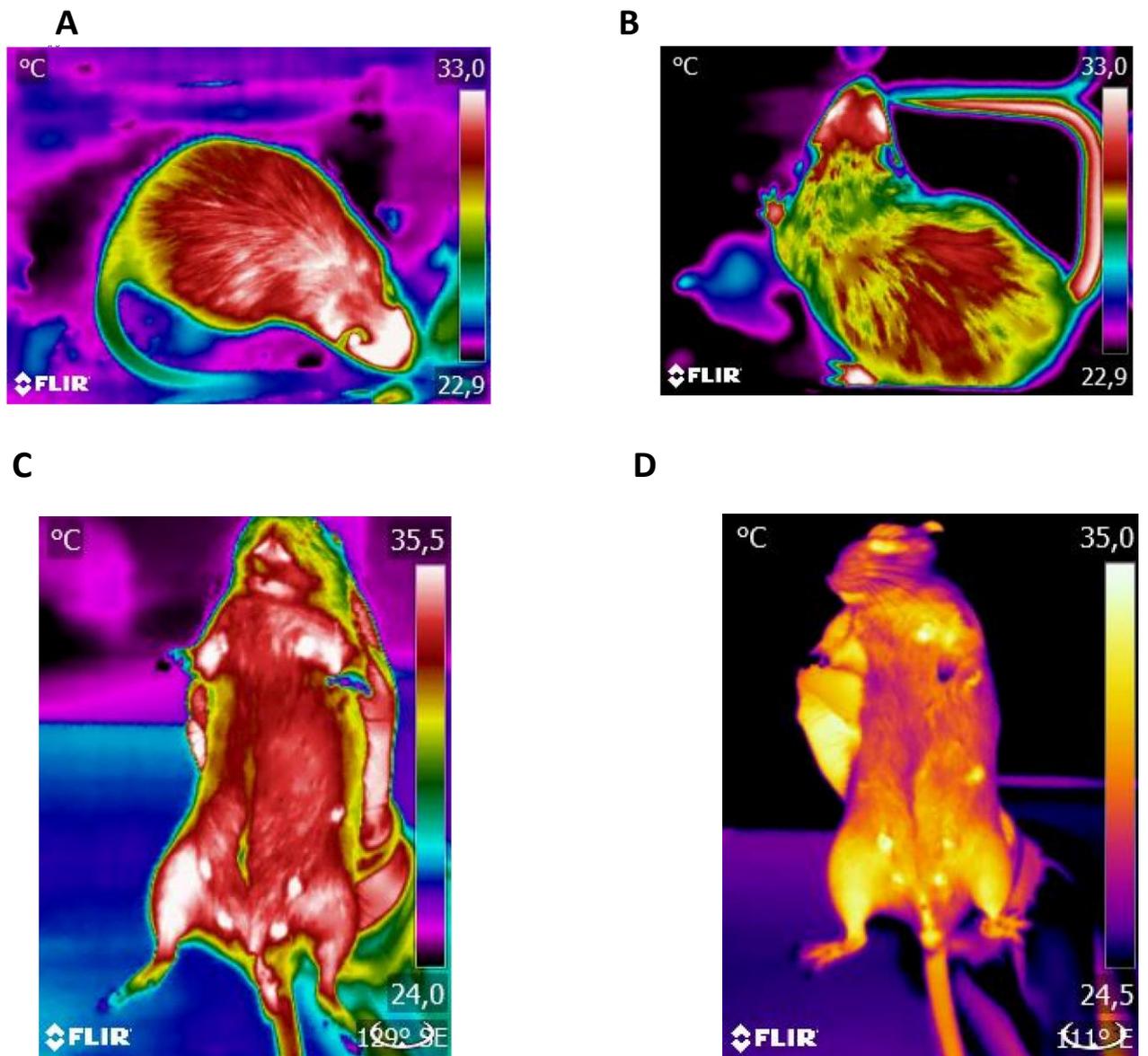


Figura 13 – Análise da temperatura do tecido da glândula mamária em ratas lactantes que receberam o tratamento com dexametasona (LD, n = 8) e das que receberam veículo (LV, n = 8) durante a última semana de gestação com câmera térmica. As ratas foram eutanasiadas no terceiro dia de lactação (L3). Os dados são expressos como média \pm SEM para n = 8 animais.

Apêndice 3 – Laudo completo da cromatografia do tecido mamário e hepático

Laudo de análise: 04/16

Ao ICB III-USP

A/C: Profa Sandra

Amostras:

1. Glândula mamária controle (amostras: 26, 31,36, 38 e 43).
2. Glândula mamária dexametasona (amostras: 22, 23, 27 41 e 42).
3. Fígado controle (amostras: 26, 31, 36, 38 e 43).
4. Fígado dexametasona (amostras: 22, 23, 27, 41 e 42).

Condições de análise:

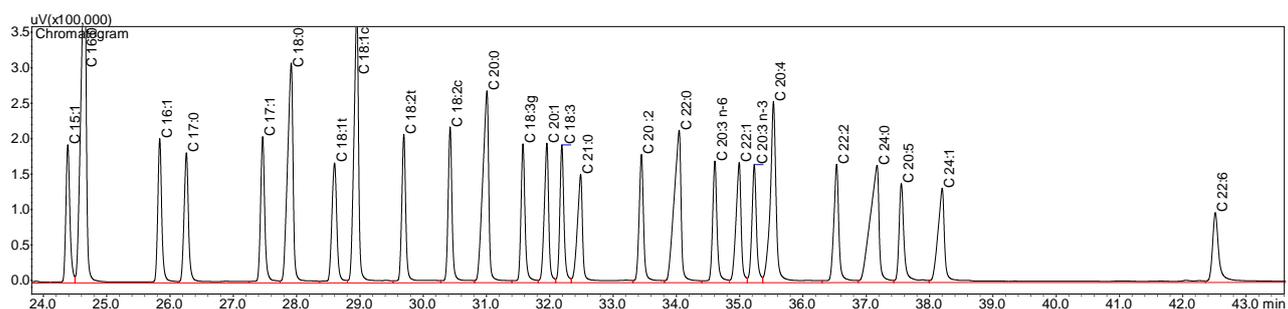
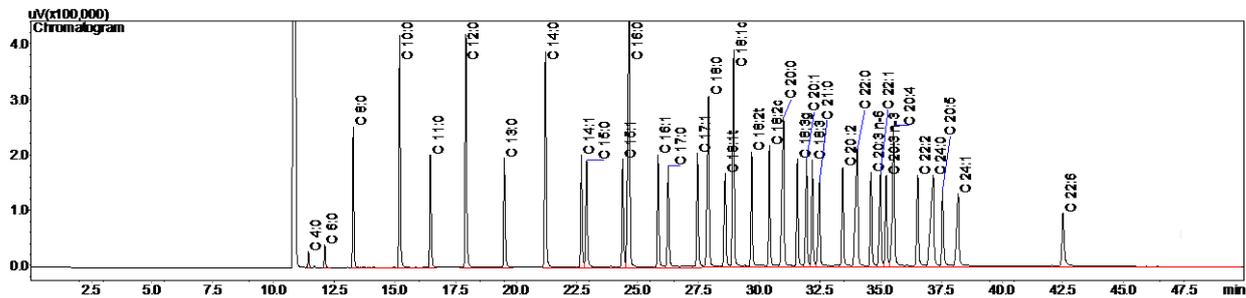
Método de extração dos lípides e derivatização: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis, Arlington, Official Method. n. 996.06, cap. 41, p. 20-24A, 2002, com modificações. Foram utilizados os fatores de resposta teóricos do FID (flame ionization detector); fatores de conversão de ésteres metílicos de ácidos graxos para ácidos graxos e triacilgliceróis. Todos estes fatores são citados no método Ce 1j-07 da AOCS.

Condições Cromatográficas:

- Cromatógrafo a gás GC 2010 plus Shimadzu/ software GC solution.
- Coluna cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (biscianopropil polisiloxana) de 100 m e 0.25 mm. de d.i.
- Programação de temperatura da coluna: isotérmico a 140°C por 5 min. e então aquecimento a 4°C/min. até 240°C, permanecendo nesta temperatura por 30 min.
- Temperatura do vaporizador: 250°C.
- Temperatura de detector: 260°C.
- Gás de arraste: Hélio (1 ml/min.).
- Razão de divisão da amostra: 1/50.

Cromatogramas prof Sandra ICB

Padrão 189 19

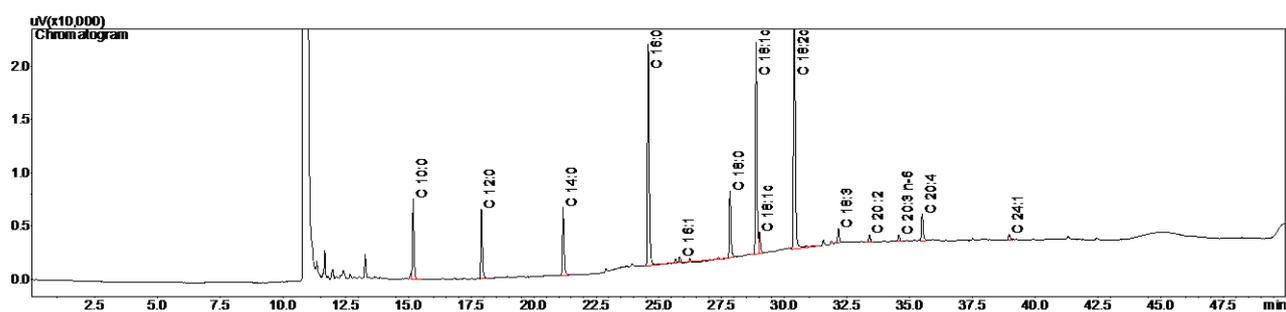


| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|-----------|--------|
| 1 | C 4:0 | 11.440 | 97149.6 | 0.2289 |
| 2 | C 6:0 | 12.113 | 153030.1 | 0.3605 |
| 3 | C 8:0 | 13.282 | 956422.5 | 2.2531 |
| 4 | C 10:0 | 15.196 | 1654742.0 | 3.8982 |
| 5 | C 11:0 | 16.463 | 837582.9 | 1.9731 |
| 6 | C 12:0 | 17.923 | 1841412.9 | 4.3379 |
| 7 | C 13:0 | 19.506 | 883016.8 | 2.0802 |
| 8 | C 14:0 | 21.202 | 1878752.7 | 4.4259 |
| 9 | C 14:1 | 22.679 | 889755.9 | 2.0961 |
| 10 | C 15:0 | 22.894 | 988298.3 | 2.3282 |
| 11 | C 15:1 | 24.385 | 892533.1 | 2.1026 |
| 12 | C 16:0 | 24.648 | 2894554.4 | 6.8189 |
| 13 | C 16:1 | 25.837 | 920797.1 | 2.1692 |
| 14 | C 17:0 | 26.259 | 1006190.5 | 2.3703 |
| 15 | C 17:1 | 27.464 | 988631.1 | 2.3290 |

| | | | | |
|----|------------|--------|-----------|--------|
| 16 | C 18:0 | 27.914 | 1935076.6 | 4.5586 |
| 17 | C 18:1t | 28.599 | 954430.5 | 2.2484 |
| 18 | C 18:1c | 28.951 | 2060998.3 | 4.8552 |
| 19 | C 18:2t | 29.694 | 1018204.4 | 2.3986 |
| 20 | C 18:2c | 30.425 | 1010371.6 | 2.3802 |
| 21 | C 20:0 | 31.007 | 1844434.4 | 4.3451 |
| 22 | C 18:3g | 31.576 | 914557.4 | 2.1545 |
| 23 | C 20:1 | 31.953 | 978824.0 | 2.3059 |
| 24 | C 18:3 | 32.190 | 891167.0 | 2.0994 |
| 25 | C 21:0 | 32.487 | 1010549.5 | 2.3806 |
| 26 | C 20 :2 | 33.448 | 933569.9 | 2.1993 |
| 27 | C 22:0 | 34.043 | 1705565.1 | 4.0179 |
| 28 | C 20:3 n-6 | 34.607 | 869079.3 | 2.0473 |
| 29 | C 22:1 | 34.992 | 970890.6 | 2.2872 |
| 30 | C 20:3 n-3 | 35.230 | 846345.9 | 1.9938 |
| 31 | C 20:4 | 35.533 | 1725495.7 | 4.0649 |
| 32 | C 22:2 | 36.531 | 973237.4 | 2.2927 |
| 33 | C 24:0 | 37.169 | 1666835.8 | 3.9267 |
| 34 | C 20:5 | 37.553 | 810818.3 | 1.9101 |
| 35 | C 24:1 | 38.199 | 1396439.1 | 3.2897 |
| 36 | C 22:6 | 42.514 | 1049307.3 | 2.4719 |

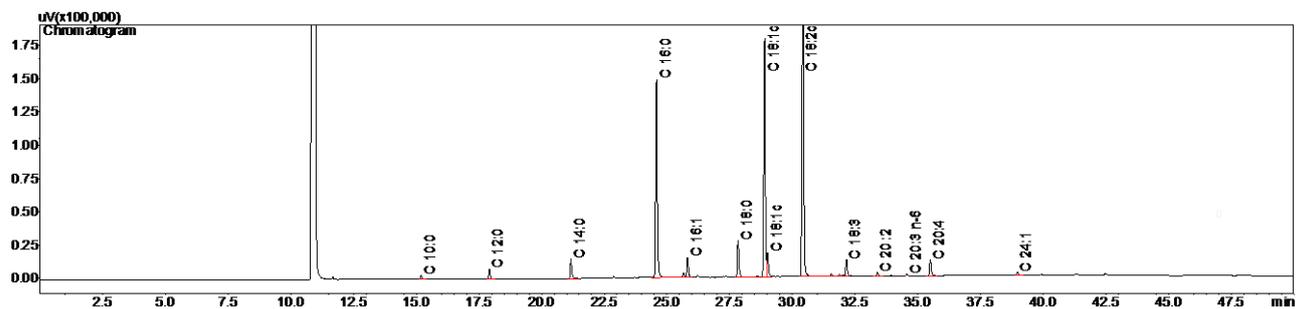
| Cromatogramas/amostras | | | |
|------------------------|-------------------------|-----------------|---------------------|
| Gl mamária controle | Gl mamária dexametasona | Fígado controle | Fígado dexametasona |
| 1: 26 | 6: 22 | 11: 26 | 16: 22 |
| 2: 31 | 7: 23 | 12: 31 | 17: 23 |
| 3: 36 | 8: 27 | 13: 36 | 18: 27 |
| 4: 38 | 9: 41 | 14: 38 | 19: 41 |
| 5: 43 | 10: 42 | 15: 43 | 20: 42 |

Gl mamária controle 1



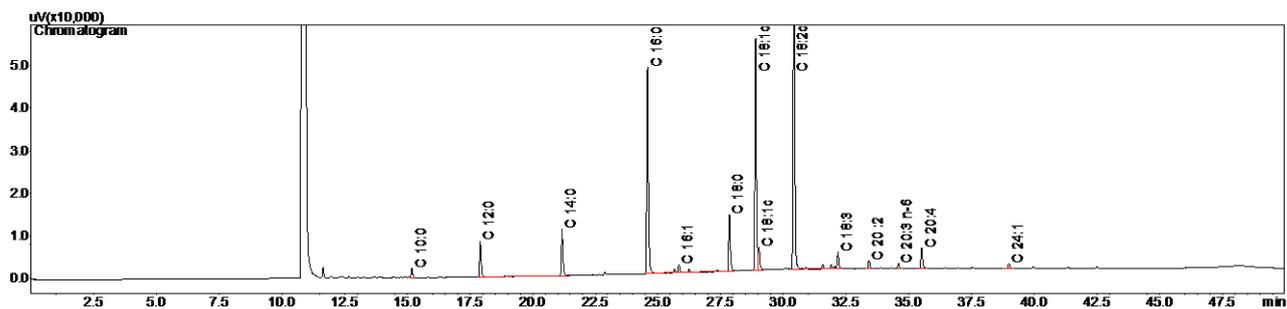
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.198 | 31298.6 | 6.6077 |
| 2 | C 12:0 | 17.916 | 28195.0 | 5.9524 |
| 3 | C 14:0 | 21.176 | 29196.8 | 6.1639 |
| 4 | C 16:0 | 24.571 | 95473.4 | 20.1561 |
| 5 | C 16:1 | 25.823 | 2387.2 | 0.5040 |
| 6 | C 18:0 | 27.830 | 28279.1 | 5.9702 |
| 7 | C 18:1c | 28.874 | 85616.7 | 18.0751 |
| 8 | C 18:1c | 29.008 | 9619.7 | 2.0309 |
| 9 | C 18:2c | 30.397 | 137304.8 | 28.9874 |
| 10 | C 18:3 | 32.163 | 5527.3 | 1.1669 |
| 11 | C 20:2 | 33.393 | 3545.1 | 0.7484 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.561 | 2776.1 | 0.5861 |
| 13 | C 20:4 | 35.494 | 12088.6 | 2.5521 |
| 14 | C 24:1 | 38.971 | 2362.6 | 0.4988 |

GI mama c2



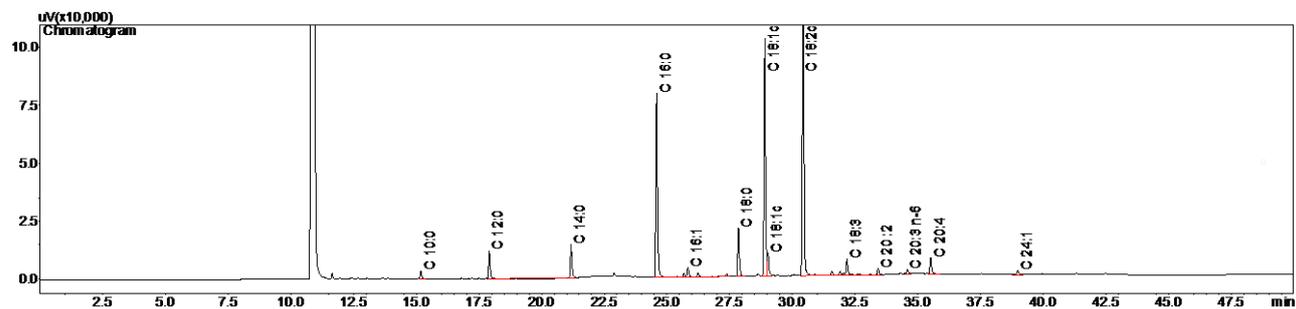
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|-----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.200 | 13797.0 | 0.4480 |
| 2 | C 12:0 | 17.911 | 33447.5 | 1.0861 |
| 3 | C 14:0 | 21.167 | 66680.3 | 2.1653 |
| 4 | C 16:0 | 24.583 | 658104.0 | 21.3706 |
| 5 | C 16:1 | 25.814 | 65950.0 | 2.1416 |
| 6 | C 18:0 | 27.831 | 126449.1 | 4.1062 |
| 7 | C 18:1c | 28.895 | 760656.9 | 24.7008 |
| 8 | C 18:1c | 29.013 | 75470.9 | 2.4508 |
| 9 | C 18:2c | 30.422 | 1141515.0 | 37.0684 |
| 10 | C 18:3 | 32.160 | 51626.9 | 1.6765 |
| 11 | C 20 :2 | 33.394 | 13310.0 | 0.4322 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.563 | 2908.3 | 0.0944 |
| 13 | C 20:4 | 35.499 | 56597.9 | 1.8379 |
| 14 | C 24:1 | 38.983 | 12972.5 | 0.4213 |

GI mama c3



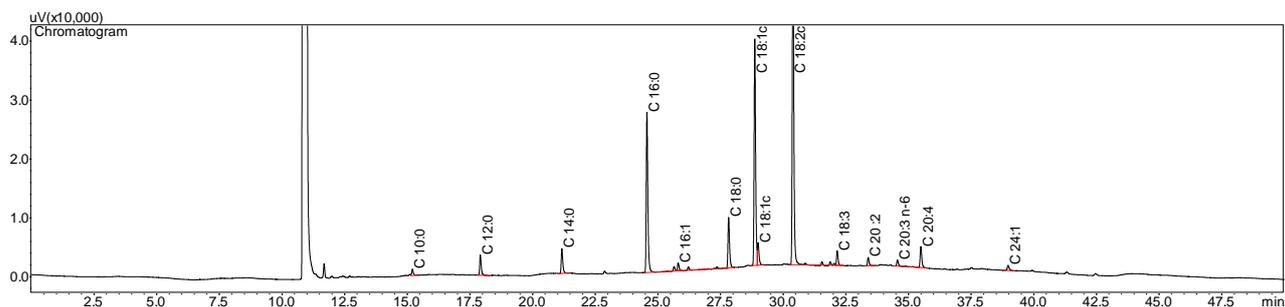
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.186 | 9451.2 | 0.9328 |
| 2 | C 12:0 | 17.907 | 31164.5 | 3.0760 |
| 3 | C 14:0 | 21.174 | 49004.8 | 4.8368 |
| 4 | C 16:0 | 24.582 | 208423.0 | 20.5715 |
| 5 | C 16:1 | 25.830 | -3753.2-0.3704 | |
| 6 | C 18:0 | 27.846 | 61010.5 | 6.0218 |
| 7 | C 18:1c | 28.894 | 228393.7 | 22.5427 |
| 8 | C 18:1c | 29.025 | 24436.5 | 2.4119 |
| 9 | C 18:2c | 30.419 | 342294.7 | 33.7848 |
| 10 | C 18:3 | 32.181 | 16449.5 | 1.6236 |
| 11 | C 20 :2 | 33.416 | 8682.4 | 0.8570 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.583 | 5880.0 | 0.5804 |
| 13 | C 20:4 | 35.517 | 23388.3 | 2.3084 |
| 14 | C 24:1 | 38.997 | 8335.9 | 0.8228 |

GI mama c4



| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.186 | 14617.0 | 0.8189 |
| 2 | C 12:0 | 17.906 | 31003.7 | 1.7370 |
| 3 | C 14:0 | 21.173 | 64023.4 | 3.5869 |
| 4 | C 16:0 | 24.586 | 337177.4 | 18.8904 |
| 5 | C 16:1 | 25.830 | 18639.3 | 1.0443 |
| 6 | C 18:0 | 27.849 | 95229.7 | 5.3352 |
| 7 | C 18:1c | 28.903 | 424838.8 | 23.8016 |
| 8 | C 18:1c | 29.028 | 43305.1 | 2.4262 |
| 9 | C 18:2c | 30.428 | 644614.5 | 36.1145 |
| 10 | C 18:3 | 32.180 | 30816.4 | 1.7265 |
| 11 | C 20 :2 | 33.415 | 11703.5 | 0.6557 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.583 | 15404.3 | 0.8630 |
| 13 | C 20:4 | 35.517 | 42629.4 | 2.3883 |
| 14 | C 24:1 | 38.996 | 10916.5 | 0.6116 |

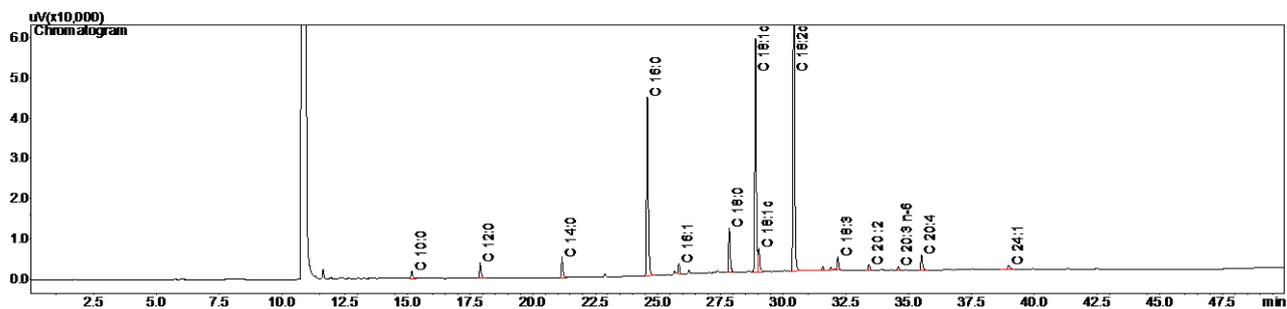
GI mama c5



| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|------|-------|
|-------|---------------|----------|------|-------|

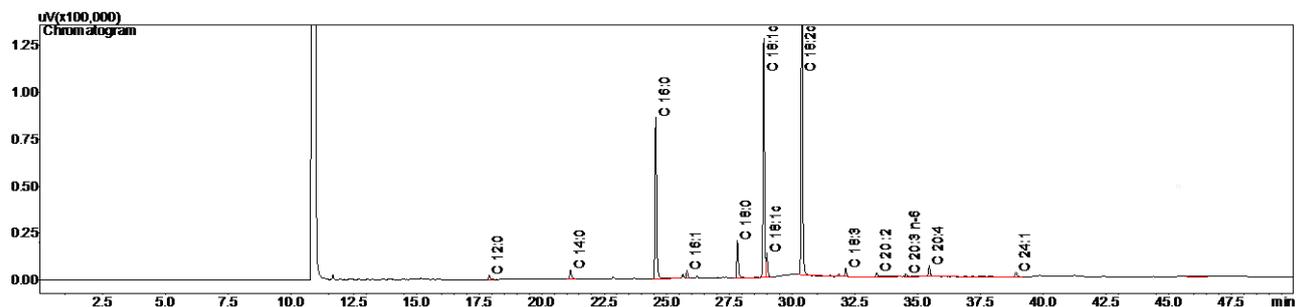
| | | | | |
|----|------------|--------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.204 | 4709.0 | 0.7029 |
| 2 | C 12:0 | 17.914 | 15030.6 | 2.2436 |
| 3 | C 14:0 | 21.168 | 18624.0 | 2.7800 |
| 4 | C 16:0 | 24.561 | 122474.1 | 18.2816 |
| 5 | C 16:1 | 25.810 | 5047.9 | 0.7535 |
| 6 | C 18:0 | 27.822 | 38253.3 | 5.7100 |
| 7 | C 18:1c | 28.866 | 161651.1 | 24.1295 |
| 8 | C 18:1c | 28.999 | 17319.0 | 2.5852 |
| 9 | C 18:2c | 30.390 | 243859.9 | 36.4007 |
| 10 | C 18:3 | 32.154 | 10445.5 | 1.5592 |
| 11 | C 20 :2 | 33.390 | 6320.0 | 0.9434 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.558 | 4578.3 | 0.6834 |
| 13 | C 20:4 | 35.493 | 16793.8 | 2.5068 |
| 14 | C 24:1 | 38.974 | 4824.5 | 0.7201 |

GI mama dexa 6



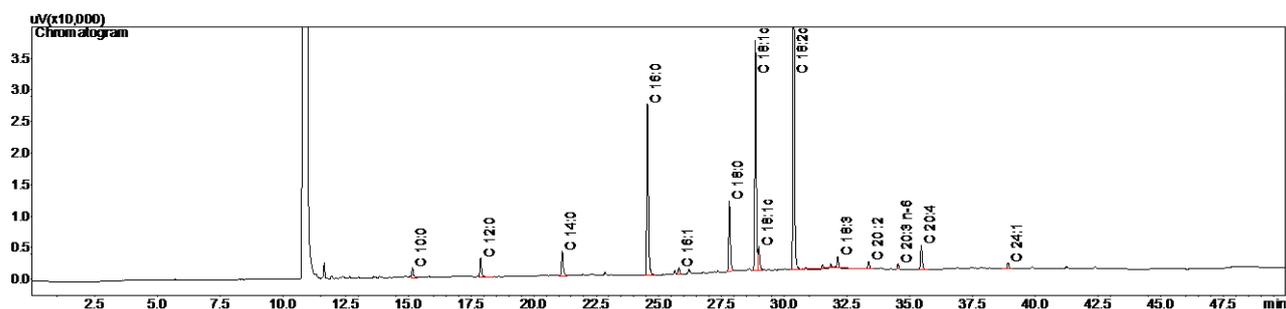
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.184 | 8970.9 | 0.9270 |
| 2 | C 12:0 | 17.905 | 18043.1 | 1.8645 |
| 3 | C 14:0 | 21.172 | 23491.6 | 2.4275 |
| 4 | C 16:0 | 24.576 | 197730.3 | 20.4326 |
| 5 | C 16:1 | 25.826 | 10698.6 | 1.1055 |
| 6 | C 18:0 | 27.840 | 51272.1 | 5.2982 |
| 7 | C 18:1c | 28.890 | 244956.2 | 25.3127 |
| 8 | C 18:1c | 29.021 | 26435.9 | 2.7318 |
| 9 | C 18:2c | 30.415 | 337482.4 | 34.8739 |
| 10 | C 18:3 | 32.178 | 13831.8 | 1.4293 |
| 11 | C 20 :2 | 33.411 | 5905.8 | 0.6103 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.580 | 3938.3 | 0.4070 |
| 13 | C 20:4 | 35.513 | 18534.5 | 1.9153 |
| 14 | C 24:1 | 38.992 | 6430.2 | 0.6645 |

GI mama dexa 7



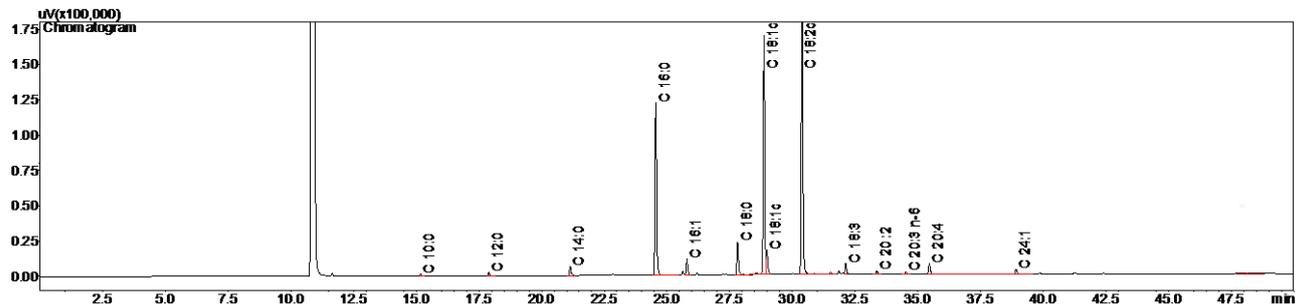
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 12:0 | 17.902 | 9884.4 | 0.5420 |
| 2 | C 14:0 | 21.153 | 24797.9 | 1.3599 |
| 3 | C 16:0 | 24.553 | 367906.0 | 20.1750 |
| 4 | C 16:1 | 25.792 | 15747.8 | 0.8636 |
| 5 | C 18:0 | 27.807 | 91838.5 | 5.0362 |
| 6 | C 18:1c | 28.862 | 524264.2 | 28.7492 |
| 7 | C 18:1c | 28.985 | 55329.8 | 3.0341 |
| 8 | C 18:2c | 30.381 | 669353.3 | 36.7055 |
| 9 | C 18:3 | 32.128 | 10924.0 | 0.5990 |
| 10 | C 20 :2 | 33.362 | 14995.9 | 0.8223 |
| 11 | C 20:3 n-6 | 34.524 | 4673.7 | 0.2563 |
| 12 | C 20:4 | 35.455 | 20388.3 | 1.1180 |
| 13 | C 24:1 | 38.921 | 13474.1 | 0.7389 |

GI mama dexa 8



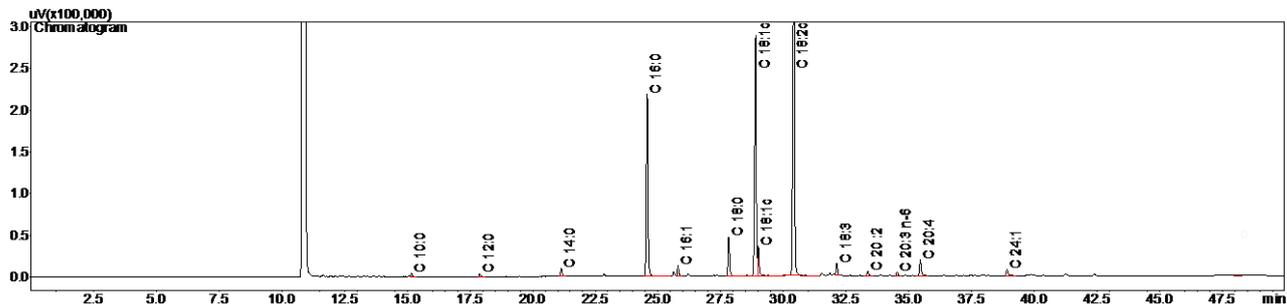
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.170 | 7883.7 | 1.2285 |
| 2 | C 12:0 | 17.883 | 14519.9 | 2.2626 |
| 3 | C 14:0 | 21.142 | 19986.0 | 3.1143 |
| 4 | C 16:0 | 24.540 | 120282.8 | 18.7432 |
| 5 | C 16:1 | 25.789 | 5297.5 | 0.8255 |
| 6 | C 18:0 | 27.805 | 49960.0 | 7.7851 |
| 7 | C 18:1c | 28.848 | 153479.7 | 23.9162 |
| 8 | C 18:1c | 28.981 | 16836.4 | 2.6236 |
| 9 | C 18:2c | 30.369 | 218163.2 | 33.9956 |
| 10 | C 18:3 | 32.131 | 2633.2 | 0.4103 |
| 11 | C 20 :2 | 33.366 | 5801.8 | 0.9041 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.528 | 2906.0 | 0.4528 |
| 13 | C 20:4 | 35.459 | 19083.3 | 2.9737 |
| 14 | C 24:1 | 38.924 | 4906.8 | 0.7646 |

GI mama dexa 9



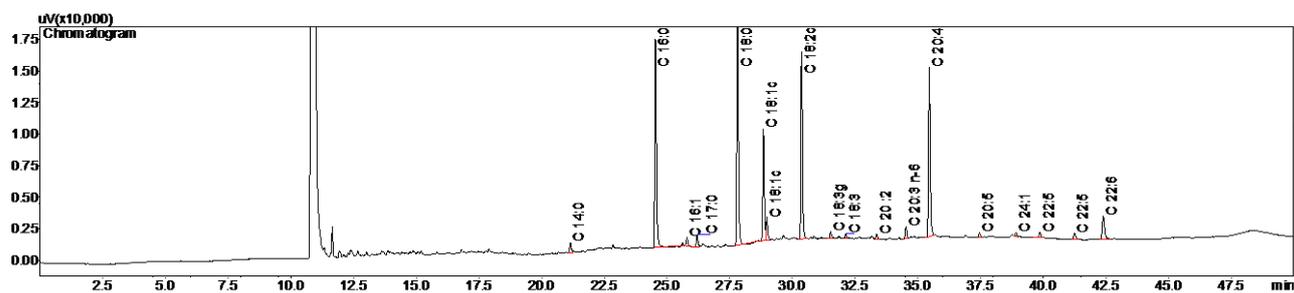
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.171 | 8152.2 | 0.3198 |
| 2 | C 12:0 | 17.884 | 12096.8 | 0.4746 |
| 3 | C 14:0 | 21.141 | 29434.0 | 1.1548 |
| 4 | C 16:0 | 24.555 | 521127.5 | 20.4450 |
| 5 | C 16:1 | 25.789 | 46418.4 | 1.8211 |
| 6 | C 18:0 | 27.810 | 109832.9 | 4.3090 |
| 7 | C 18:1c | 28.872 | 710017.0 | 27.8556 |
| 8 | C 18:1c | 28.990 | 70957.8 | 2.7838 |
| 9 | C 18:2c | 30.391 | 929547.0 | 36.4683 |
| 10 | C 18:3 | 32.132 | 30680.0 | 1.2036 |
| 11 | C 20 :2 | 33.366 | 12642.8 | 0.4960 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.529 | 10049.8 | 0.3943 |
| 13 | C 20:4 | 35.459 | 39972.3 | 1.5682 |
| 14 | C 24:1 | 38.925 | 17992.7 | 0.7059 |

GI mama dexta 10



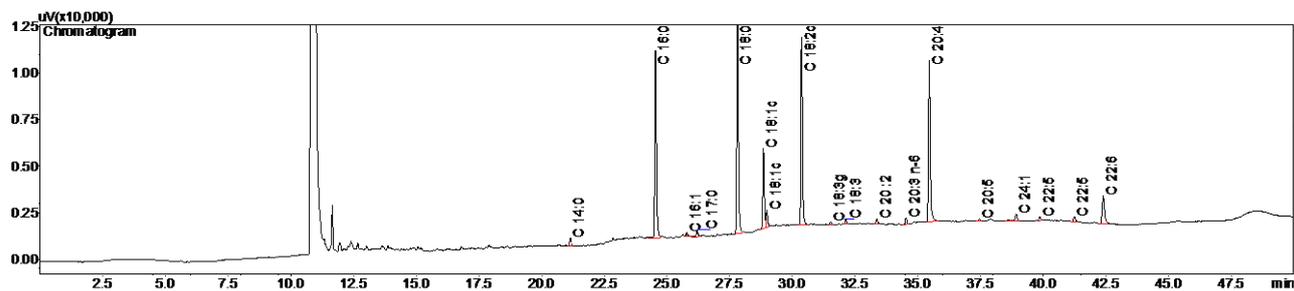
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|-----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.169 | 18083.9 | 0.3674 |
| 2 | C 12:0 | 17.884 | 17860.9 | 0.3629 |
| 3 | C 14:0 | 21.142 | 45732.0 | 0.9292 |
| 4 | C 16:0 | 24.573 | 962427.6 | 19.5550 |
| 5 | C 16:1 | 25.791 | 50259.7 | 1.0212 |
| 6 | C 18:0 | 27.819 | 218200.4 | 4.4335 |
| 7 | C 18:1c | 28.895 | 1319471.4 | 26.8095 |
| 8 | C 18:1c | 29.002 | 136331.8 | 2.7700 |
| 9 | C 18:2c | 30.418 | 1913056.7 | 38.8702 |
| 10 | C 18:3 | 32.132 | 58079.6 | 1.1801 |
| 11 | C 20 :2 | 33.367 | 25662.4 | 0.5214 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.530 | 21799.8 | 0.4429 |
| 13 | C 20:4 | 35.460 | 95012.5 | 1.9305 |
| 14 | C 24:1 | 38.926 | 39678.4 | 0.8062 |

Fig controle 11



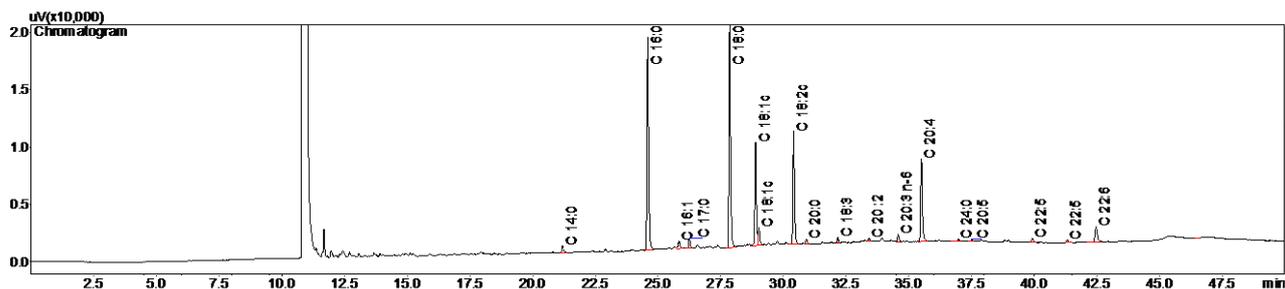
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.147 | 3738.6 | 1.0078 |
| 2 | C 16:0 | 24.542 | 71855.6 | 19.3691 |
| 3 | C 16:1 | 25.790 | 3021.0 | 0.8143 |
| 4 | C 17:0 | 26.202 | 4153.4 | 1.1196 |
| 5 | C 18:0 | 27.810 | 86952.0 | 23.4385 |
| 6 | C 18:1c | 28.848 | 37888.0 | 10.2130 |
| 7 | C 18:1c | 28.984 | 8091.8 | 2.1812 |
| 8 | C 18:2c | 30.368 | 62961.1 | 16.9716 |
| 9 | C 18:3g | 31.525 | 2094.4 | 0.5646 |
| 10 | C 18:3 | 32.134 | 1535.6 | 0.4139 |
| 11 | C 20:2 | 33.364 | 1677.9 | 0.4523 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.529 | 4010.7 | 1.0811 |
| 13 | C 20:4 | 35.460 | 62482.0 | 16.8424 |
| 14 | C 20:5 | 37.458 | 1488.8 | 0.4013 |
| 15 | C 24:1 | 38.925 | 1375.2 | 0.3707 |
| 16 | C 22:5 | 39.876 | 2532.7 | 0.6827 |
| 17 | C 22:5 | 41.252 | 2715.5 | 0.7320 |
| 18 | C 22:6 | 42.396 | 12405.5 | 3.3440 |

Fig controle 12



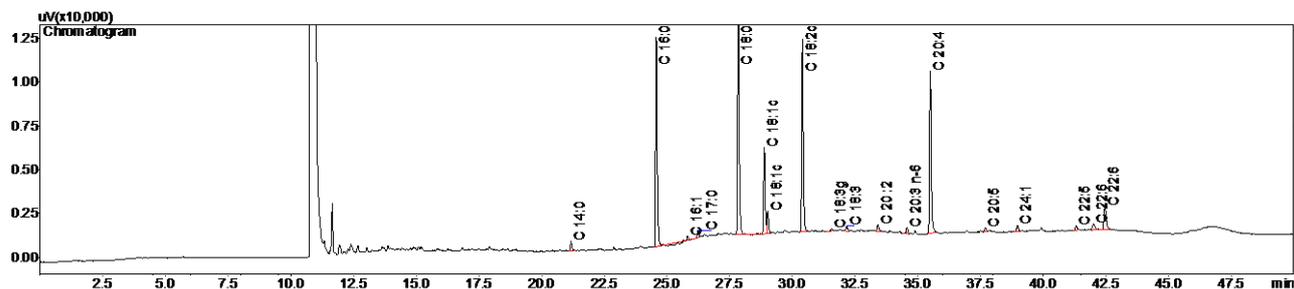
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.147 | 1922.4 | 0.8359 |
| 2 | C 16:0 | 24.542 | 44335.3 | 19.2785 |
| 3 | C 16:1 | 25.789 | 963.5 | 0.4190 |
| 4 | C 17:0 | 26.202 | 2084.9 | 0.9066 |
| 5 | C 18:0 | 27.809 | 53884.2 | 23.4307 |
| 6 | C 18:1c | 28.848 | 18496.0 | 8.0427 |
| 7 | C 18:1c | 28.984 | 3931.3 | 1.7095 |
| 8 | C 18:2c | 30.367 | 43049.3 | 18.7194 |
| 9 | C 18:3g | 31.526 | 592.3 | 0.2576 |
| 10 | C 18:3 | 32.134 | 1265.7 | 0.5504 |
| 11 | C 20 :2 | 33.366 | 1172.3 | 0.5097 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.529 | 1496.2 | 0.6506 |
| 13 | C 20:4 | 35.459 | 41805.5 | 18.1785 |
| 14 | C 20:5 | 37.461 | 547.9 | 0.2382 |
| 15 | C 24:1 | 38.926 | 2071.9 | 0.9009 |
| 16 | C 22:5 | 39.875 | 961.5 | 0.4181 |
| 17 | C 22:5 | 41.248 | 1614.2 | 0.7019 |
| 18 | C 22:6 | 42.395 | 9777.8 | 4.2517 |

Fig c 13



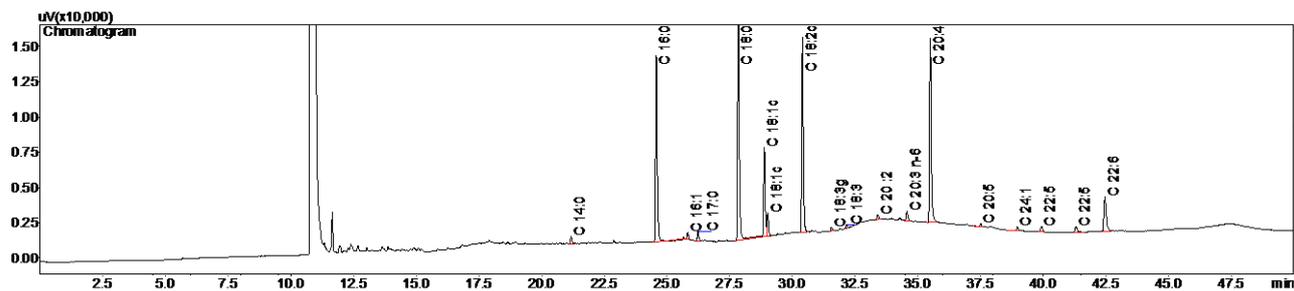
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.194 | 2658.0 | 0.8324 |
| 2 | C 16:0 | 24.590 | 80648.0 | 25.2558 |
| 3 | C 16:1 | 25.835 | 3491.2 | 1.0933 |
| 4 | C 17:0 | 26.250 | 3545.3 | 1.1103 |
| 5 | C 18:0 | 27.858 | 84749.8 | 26.5404 |
| 6 | C 18:1c | 28.892 | 38903.4 | 12.1831 |
| 7 | C 18:1c | 29.028 | 6882.7 | 2.1554 |
| 8 | C 18:2c | 30.409 | 41296.7 | 12.9325 |
| 9 | C 20:0 | 30.916 | 2014.9 | 0.6310 |
| 10 | C 18:3 | 32.173 | 1998.7 | 0.6259 |
| 11 | C 20 :2 | 33.414 | 1130.5 | 0.3540 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.575 | 2809.6 | 0.8799 |
| 13 | C 20:4 | 35.505 | 34854.7 | 10.9152 |
| 14 | C 24:0 | 36.981 | 990.6 | 0.3102 |
| 15 | C 20:5 | 37.519 | 1013.4 | 0.3174 |
| 16 | C 22:5 | 39.939 | 1973.6 | 0.6181 |
| 17 | C 22:5 | 41.320 | 1354.7 | 0.4242 |
| 18 | C 22:6 | 42.468 | 9008.0 | 2.8210 |

Fig c 14



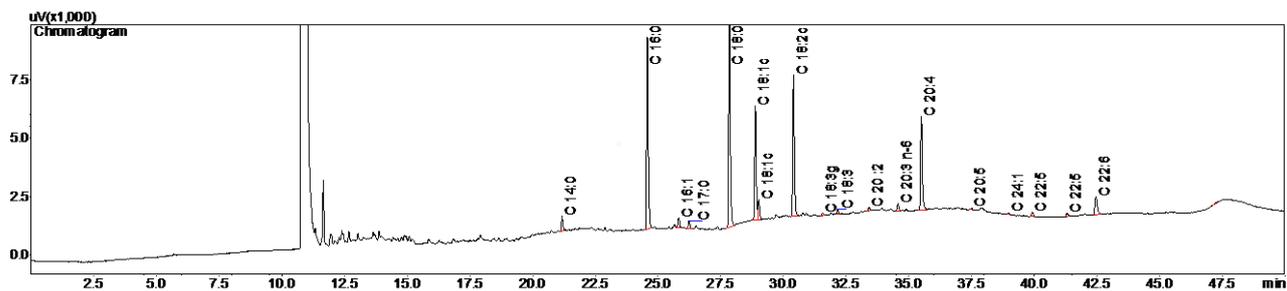
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.173 | 2268.1 | 0.9016 |
| 2 | C 16:0 | 24.573 | 48894.2 | 19.4367 |
| 3 | C 16:1 | 25.819 | 1086.1 | 0.4318 |
| 4 | C 17:0 | 26.237 | 1810.6 | 0.7198 |
| 5 | C 18:0 | 27.843 | 59914.1 | 23.8174 |
| 6 | C 18:1c | 28.881 | 21125.1 | 8.3978 |
| 7 | C 18:1c | 29.019 | 5649.9 | 2.2460 |
| 8 | C 18:2c | 30.402 | 46359.0 | 18.4289 |
| 9 | C 18:3g | 31.560 | 640.3 | 0.2545 |
| 10 | C 18:3 | 32.169 | 1380.5 | 0.5488 |
| 11 | C 20:2 | 33.405 | 1774.6 | 0.7054 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.568 | 1754.1 | 0.6973 |
| 13 | C 20:4 | 35.501 | 43601.0 | 17.3325 |
| 14 | C 20:5 | 37.703 | 1103.1 | 0.4385 |
| 15 | C 24:1 | 38.982 | 1918.4 | 0.7626 |
| 16 | C 22:5 | 41.314 | 1524.7 | 0.6061 |
| 17 | C 22:6 | 42.012 | 2408.9 | 0.9576 |
| 18 | C 22:6 | 42.463 | 8343.1 | 3.3166 |

Fig c 15



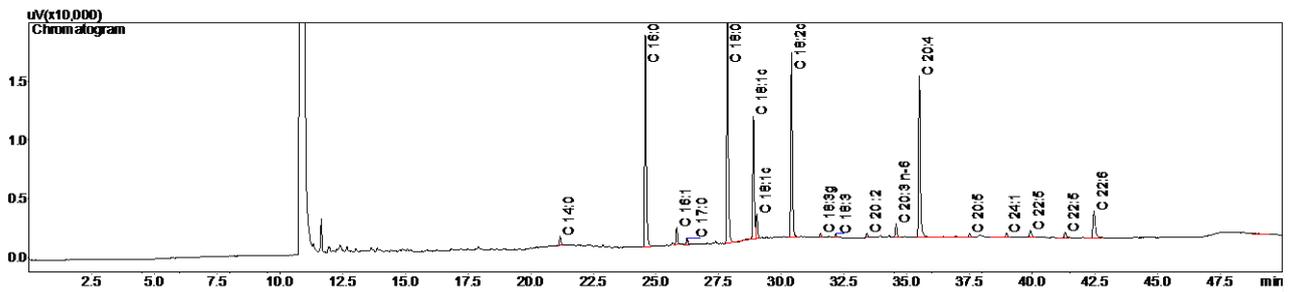
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.173 | 2584.7 | 0.7759 |
| 2 | C 16:0 | 24.574 | 57393.6 | 17.2291 |
| 3 | C 16:1 | 25.823 | 1877.6 | 0.5636 |
| 4 | C 17:0 | 26.236 | 3101.7 | 0.9311 |
| 5 | C 18:0 | 27.845 | 83390.6 | 25.0332 |
| 6 | C 18:1c | 28.882 | 26811.1 | 8.0485 |
| 7 | C 18:1c | 29.019 | 7193.6 | 2.1595 |
| 8 | C 18:2c | 30.402 | 58450.3 | 17.5463 |
| 9 | C 18:3g | 31.561 | 1197.9 | 0.3596 |
| 10 | C 18:3 | 32.168 | 1103.4 | 0.3312 |
| 11 | C 20 :2 | 33.407 | 1629.8 | 0.4893 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.569 | 2989.2 | 0.8973 |
| 13 | C 20:4 | 35.502 | 61988.3 | 18.6084 |
| 14 | C 20:5 | 37.516 | 1070.2 | 0.3213 |
| 15 | C 24:1 | 38.982 | 1348.2 | 0.4047 |
| 16 | C 22:5 | 39.933 | 2128.7 | 0.6390 |
| 17 | C 22:5 | 41.314 | 2622.1 | 0.7871 |
| 18 | C 22:6 | 42.463 | 16239.0 | 4.8748 |

Fig dexa 16



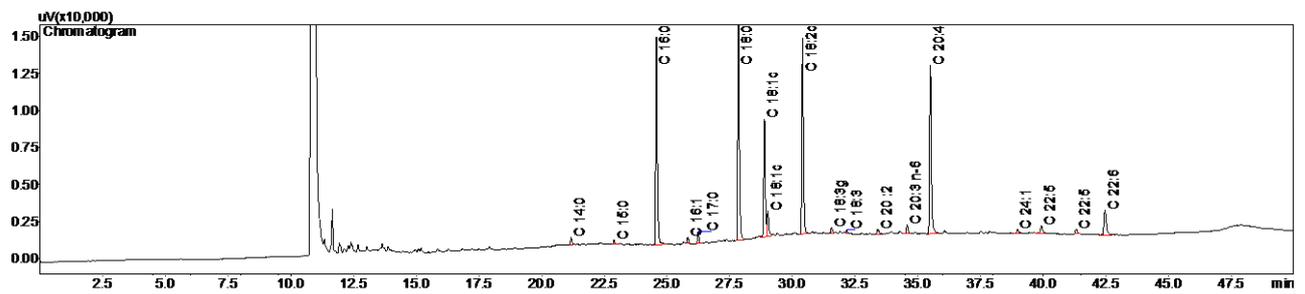
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.174 | 2683.3 | 1.6336 |
| 2 | C 16:0 | 24.576 | 35719.9 | 21.7465 |
| 3 | C 16:1 | 25.824 | 2038.3 | 1.2409 |
| 4 | C 17:0 | 26.238 | 1352.3 | 0.8233 |
| 5 | C 18:0 | 27.845 | 41372.4 | 25.1878 |
| 6 | C 18:1c | 28.884 | 20962.1 | 12.7618 |
| 7 | C 18:1c | 29.020 | 3835.4 | 2.3350 |
| 8 | C 18:2c | 30.403 | 25954.8 | 15.8015 |
| 9 | C 18:3g | 31.565 | 480.5 | 0.2925 |
| 10 | C 18:3 | 32.172 | 875.7 | 0.5331 |
| 11 | C 20:2 | 33.409 | 606.1 | 0.3690 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.571 | 1521.9 | 0.9265 |
| 13 | C 20:4 | 35.503 | 19465.7 | 11.8508 |
| 14 | C 20:5 | 37.516 | 324.3 | 0.1974 |
| 15 | C 24:1 | 38.988 | 359.4 | 0.2188 |
| 16 | C 22:5 | 39.932 | 801.7 | 0.4881 |
| 17 | C 22:5 | 41.320 | 722.3 | 0.4397 |
| 18 | C 22:6 | 42.464 | 5179.7 | 3.1535 |

Fig dexa 17



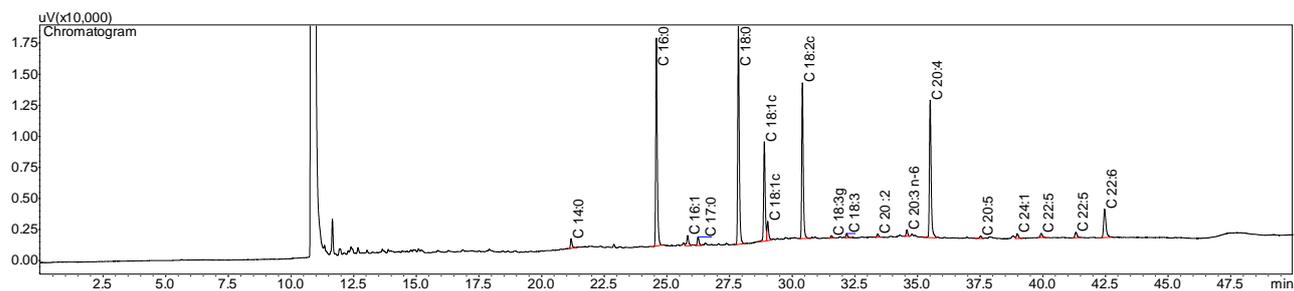
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.176 | 3211.8 | 0.8019 |
| 2 | C 16:0 | 24.576 | 78884.9 | 19.6941 |
| 3 | C 16:1 | 25.825 | 6139.9 | 1.5329 |
| 4 | C 17:0 | 26.240 | 2606.1 | 0.6506 |
| 5 | C 18:0 | 27.849 | 89095.3 | 22.2433 |
| 6 | C 18:1c | 28.885 | 44409.3 | 11.0871 |
| 7 | C 18:1c | 29.021 | 9376.3 | 2.3409 |
| 8 | C 18:2c | 30.404 | 66407.5 | 16.5791 |
| 9 | C 18:3g | 31.561 | 1607.8 | 0.4014 |
| 10 | C 18:3 | 32.171 | 1046.1 | 0.2612 |
| 11 | C 20:2 | 33.409 | 1454.5 | 0.3631 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.572 | 5389.1 | 1.3454 |
| 13 | C 20:4 | 35.503 | 65050.6 | 16.2403 |
| 14 | C 20:5 | 37.514 | 1779.4 | 0.4442 |
| 15 | C 24:1 | 38.984 | 1901.4 | 0.4747 |
| 16 | C 22:5 | 39.935 | 3868.8 | 0.9659 |
| 17 | C 22:5 | 41.318 | 2822.4 | 0.7046 |
| 18 | C 22:6 | 42.464 | 15498.7 | 3.8694 |

Fig dexa 18



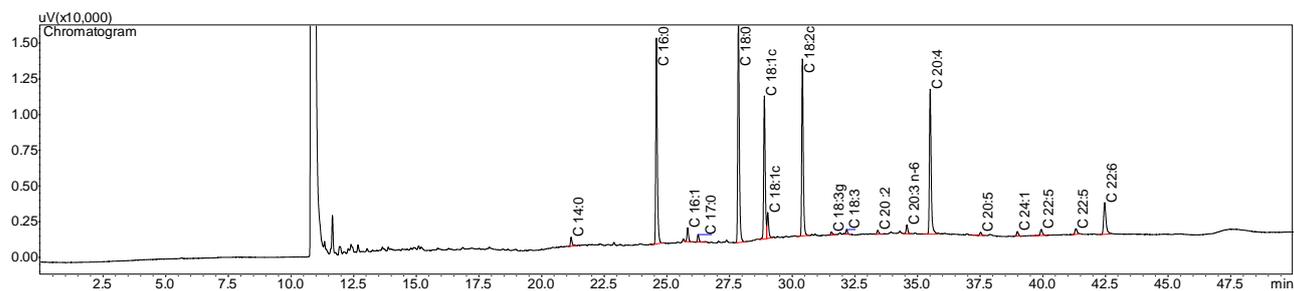
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.177 | 2002.0 | 0.6257 |
| 2 | C 15:0 | 22.885 | 799.5 | 0.2499 |
| 3 | C 16:0 | 24.577 | 61555.2 | 19.2392 |
| 4 | C 16:1 | 25.825 | 1678.1 | 0.5245 |
| 5 | C 17:0 | 26.240 | 3219.2 | 1.0062 |
| 6 | C 18:0 | 27.850 | 73058.7 | 22.8347 |
| 7 | C 18:1c | 28.886 | 34486.8 | 10.7789 |
| 8 | C 18:1c | 29.023 | 8039.1 | 2.5126 |
| 9 | C 18:2c | 30.405 | 55991.1 | 17.5001 |
| 10 | C 18:3g | 31.563 | 1633.5 | 0.5105 |
| 11 | C 18:3 | 32.172 | 770.6 | 0.2409 |
| 12 | C 20:2 | 33.408 | 1513.6 | 0.4731 |
| 13 | C 20:3 n-6 | 34.573 | 2955.0 | 0.9236 |
| 14 | C 20:4 | 35.504 | 54891.1 | 17.1564 |
| 15 | C 24:1 | 38.985 | 1525.0 | 0.4766 |
| 16 | C 22:5 | 39.936 | 2914.7 | 0.9110 |
| 17 | C 22:5 | 41.318 | 1548.7 | 0.4841 |
| 18 | C 22:6 | 42.466 | 11364.3 | 3.5520 |

Fig dexa 19



| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.178 | 3479.4 | 1.0361 |
| 2 | C 16:0 | 24.579 | 71746.7 | 21.3641 |
| 3 | C 16:1 | 25.828 | 4413.7 | 1.3143 |
| 4 | C 17:0 | 26.243 | 3304.9 | 0.9841 |
| 5 | C 18:0 | 27.852 | 75807.6 | 22.5733 |
| 6 | C 18:1c | 28.887 | 34913.4 | 10.3962 |
| 7 | C 18:1c | 29.024 | 7314.9 | 2.1782 |
| 8 | C 18:2c | 30.406 | 52932.5 | 15.7618 |
| 9 | C 18:3g | 31.566 | 932.1 | 0.2775 |
| 10 | C 18:3 | 32.173 | 1447.5 | 0.4310 |
| 11 | C 20 :2 | 33.412 | 1314.8 | 0.3915 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.575 | 2226.1 | 0.6629 |
| 13 | C 20:4 | 35.505 | 53144.5 | 15.8249 |
| 14 | C 20:5 | 37.518 | 1255.6 | 0.3739 |
| 15 | C 24:1 | 38.983 | 2170.0 | 0.6462 |
| 16 | C 22:5 | 39.936 | 1901.8 | 0.5663 |
| 17 | C 22:5 | 41.319 | 2656.9 | 0.7911 |
| 18 | C 22:6 | 42.466 | 14866.2 | 4.4267 |

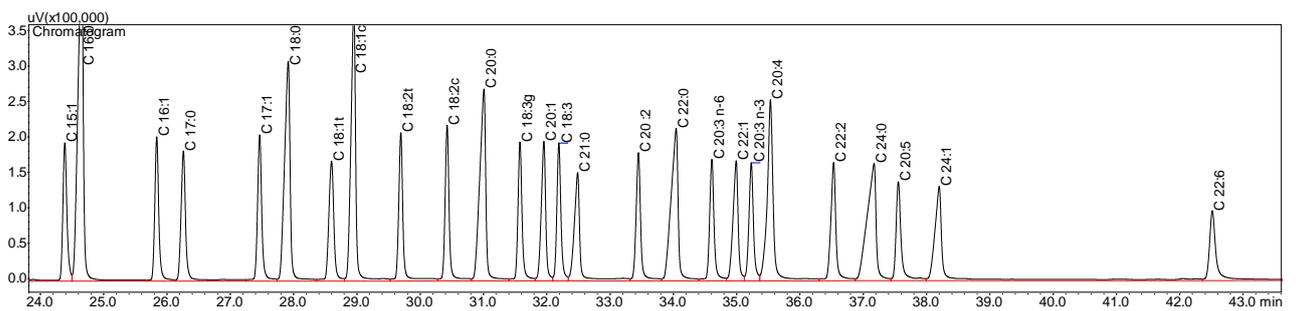
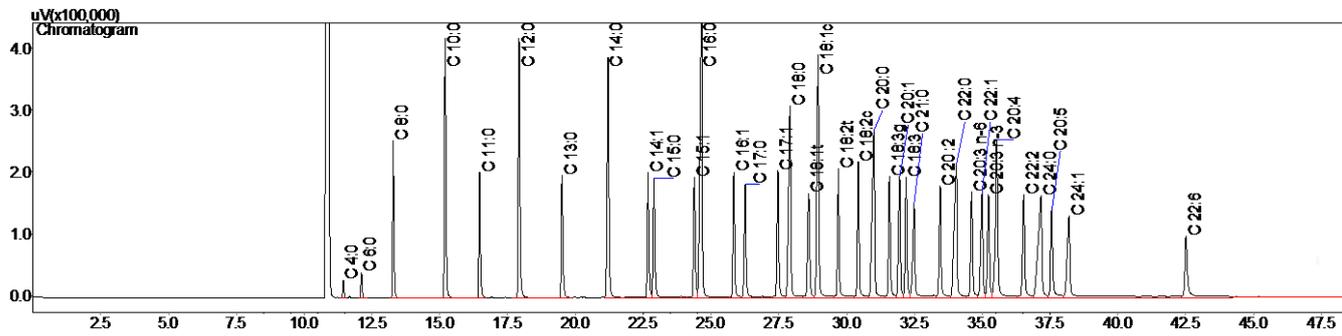
Fig dexa 20



| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.179 | 2845.0 | 0.8843 |
| 2 | C 16:0 | 24.580 | 62086.4 | 19.2980 |
| 3 | C 16:1 | 25.828 | 4165.2 | 1.2946 |
| 4 | C 17:0 | 26.244 | 2136.0 | 0.6639 |
| 5 | C 18:0 | 27.853 | 69285.6 | 21.5357 |
| 6 | C 18:1c | 28.889 | 42831.6 | 13.3131 |
| 7 | C 18:1c | 29.025 | 8164.8 | 2.5378 |
| 8 | C 18:2c | 30.407 | 52186.1 | 16.2207 |
| 9 | C 18:3g | 31.567 | 1050.3 | 0.3265 |
| 10 | C 18:3 | 32.173 | 1270.5 | 0.3949 |
| 11 | C 20 :2 | 33.412 | 1381.7 | 0.4295 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.575 | 2861.4 | 0.8894 |
| 13 | C 20:4 | 35.505 | 49087.8 | 15.2577 |
| 14 | C 20:5 | 37.517 | 1166.1 | 0.3624 |
| 15 | C 24:1 | 38.988 | 1608.7 | 0.5000 |
| 16 | C 22:5 | 39.940 | 2818.7 | 0.8761 |
| 17 | C 22:5 | 41.320 | 2418.1 | 0.7516 |
| 18 | C 22:6 | 42.466 | 14361.0 | 4.4637 |

Cromatogramas prof Sandra ICB

Padrão 189 19

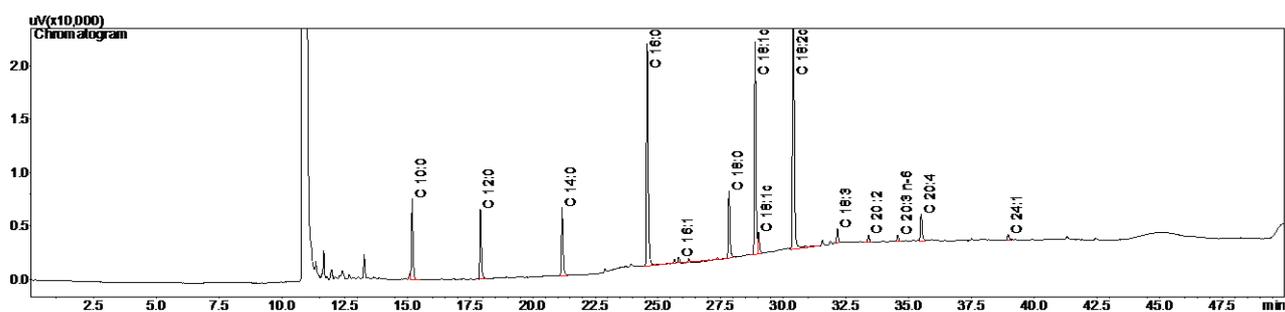


| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|-----------|--------|
| 1 | C 4:0 | 11.440 | 97149.6 | 0.2289 |
| 2 | C 6:0 | 12.113 | 153030.1 | 0.3605 |
| 3 | C 8:0 | 13.282 | 956422.5 | 2.2531 |
| 4 | C 10:0 | 15.196 | 1654742.0 | 3.8982 |
| 5 | C 11:0 | 16.463 | 837582.9 | 1.9731 |
| 6 | C 12:0 | 17.923 | 1841412.9 | 4.3379 |
| 7 | C 13:0 | 19.506 | 883016.8 | 2.0802 |
| 8 | C 14:0 | 21.202 | 1878752.7 | 4.4259 |
| 9 | C 14:1 | 22.679 | 889755.9 | 2.0961 |
| 10 | C 15:0 | 22.894 | 988298.3 | 2.3282 |
| 11 | C 15:1 | 24.385 | 892533.1 | 2.1026 |
| 12 | C 16:0 | 24.648 | 2894554.4 | 6.8189 |
| 13 | C 16:1 | 25.837 | 920797.1 | 2.1692 |
| 14 | C 17:0 | 26.259 | 1006190.5 | 2.3703 |

| | | | | |
|----|------------|--------|-----------|--------|
| 15 | C 17:1 | 27.464 | 988631.1 | 2.3290 |
| 16 | C 18:0 | 27.914 | 1935076.6 | 4.5586 |
| 17 | C 18:1t | 28.599 | 954430.5 | 2.2484 |
| 18 | C 18:1c | 28.951 | 2060998.3 | 4.8552 |
| 19 | C 18:2t | 29.694 | 1018204.4 | 2.3986 |
| 20 | C 18:2c | 30.425 | 1010371.6 | 2.3802 |
| 21 | C 20:0 | 31.007 | 1844434.4 | 4.3451 |
| 22 | C 18:3g | 31.576 | 914557.4 | 2.1545 |
| 23 | C 20:1 | 31.953 | 978824.0 | 2.3059 |
| 24 | C 18:3 | 32.190 | 891167.0 | 2.0994 |
| 25 | C 21:0 | 32.487 | 1010549.5 | 2.3806 |
| 26 | C 20 :2 | 33.448 | 933569.9 | 2.1993 |
| 27 | C 22:0 | 34.043 | 1705565.1 | 4.0179 |
| 28 | C 20:3 n-6 | 34.607 | 869079.3 | 2.0473 |
| 29 | C 22:1 | 34.992 | 970890.6 | 2.2872 |
| 30 | C 20:3 n-3 | 35.230 | 846345.9 | 1.9938 |
| 31 | C 20:4 | 35.533 | 1725495.7 | 4.0649 |
| 32 | C 22:2 | 36.531 | 973237.4 | 2.2927 |
| 33 | C 24:0 | 37.169 | 1666835.8 | 3.9267 |
| 34 | C 20:5 | 37.553 | 810818.3 | 1.9101 |
| 35 | C 24:1 | 38.199 | 1396439.1 | 3.2897 |
| 36 | C 22:6 | 42.514 | 1049307.3 | 2.4719 |

| Cromatogramas/amostras | | | |
|------------------------|-------------------------|-----------------|---------------------|
| Gl mamária controle | Gl mamária dexametasona | Fígado controle | Fígado dexametasona |
| 1: 26 | 6: 22 | 11: 26 | 16: 22 |
| 2: 31 | 7: 23 | 12: 31 | 17: 23 |
| 3: 36 | 8: 27 | 13: 36 | 18: 27 |
| 4: 38 | 9: 41 | 14: 38 | 19: 41 |
| 5: 43 | 10: 42 | 15: 43 | 20: 42 |

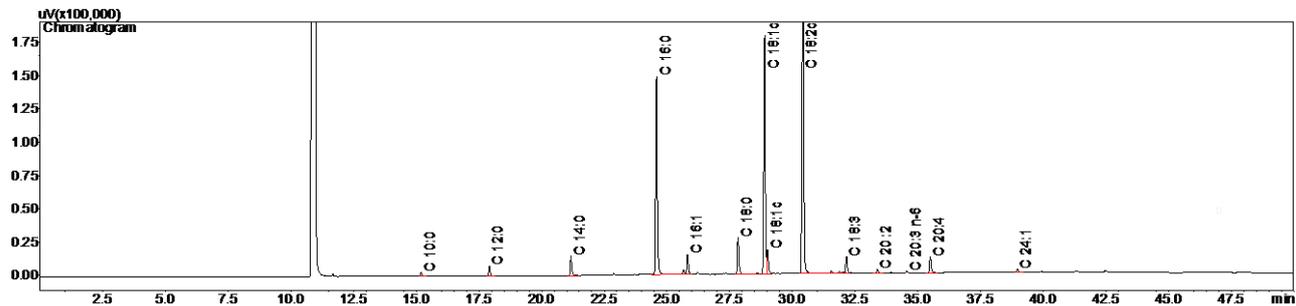
Gl mamária controle 1



| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.198 | 31298.6 | 6.6077 |
| 2 | C 12:0 | 17.916 | 28195.0 | 5.9524 |
| 3 | C 14:0 | 21.176 | 29196.8 | 6.1639 |
| 4 | C 16:0 | 24.571 | 95473.4 | 20.1561 |
| 5 | C 16:1 | 25.823 | 2387.2 | 0.5040 |
| 6 | C 18:0 | 27.830 | 28279.1 | 5.9702 |
| 7 | C 18:1c | 28.874 | 85616.7 | 18.0751 |
| 8 | C 18:1c | 29.008 | 9619.7 | 2.0309 |
| 9 | C 18:2c | 30.397 | 137304.8 | 28.9874 |
| 10 | C 18:3 | 32.163 | 5527.3 | 1.1669 |
| 11 | C 20:2 | 33.393 | 3545.1 | 0.7484 |

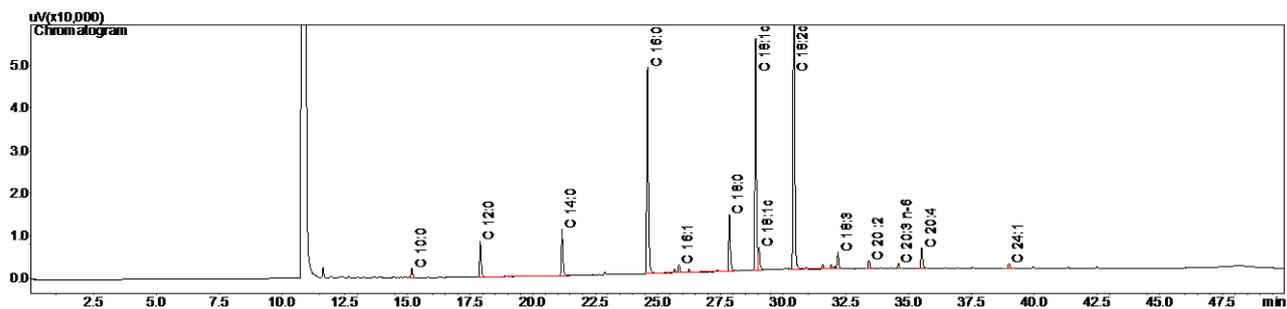
| | | | | |
|----|------------|--------|---------|--------|
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.561 | 2776.1 | 0.5861 |
| 13 | C 20:4 | 35.494 | 12088.6 | 2.5521 |
| 14 | C 24:1 | 38.971 | 2362.6 | 0.4988 |

GI mama c2



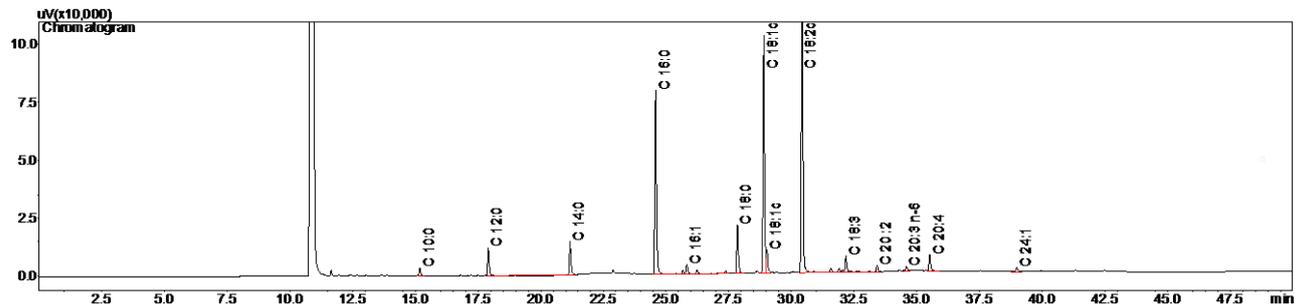
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|-----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.200 | 13797.0 | 0.4480 |
| 2 | C 12:0 | 17.911 | 33447.5 | 1.0861 |
| 3 | C 14:0 | 21.167 | 66680.3 | 2.1653 |
| 4 | C 16:0 | 24.583 | 658104.0 | 21.3706 |
| 5 | C 16:1 | 25.814 | 65950.0 | 2.1416 |
| 6 | C 18:0 | 27.831 | 126449.1 | 4.1062 |
| 7 | C 18:1c | 28.895 | 760656.9 | 24.7008 |
| 8 | C 18:1c | 29.013 | 75470.9 | 2.4508 |
| 9 | C 18:2c | 30.422 | 1141515.0 | 37.0684 |
| 10 | C 18:3 | 32.160 | 51626.9 | 1.6765 |
| 11 | C 20 :2 | 33.394 | 13310.0 | 0.4322 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.563 | 2908.3 | 0.0944 |
| 13 | C 20:4 | 35.499 | 56597.9 | 1.8379 |
| 14 | C 24:1 | 38.983 | 12972.5 | 0.4213 |

GI mama c3



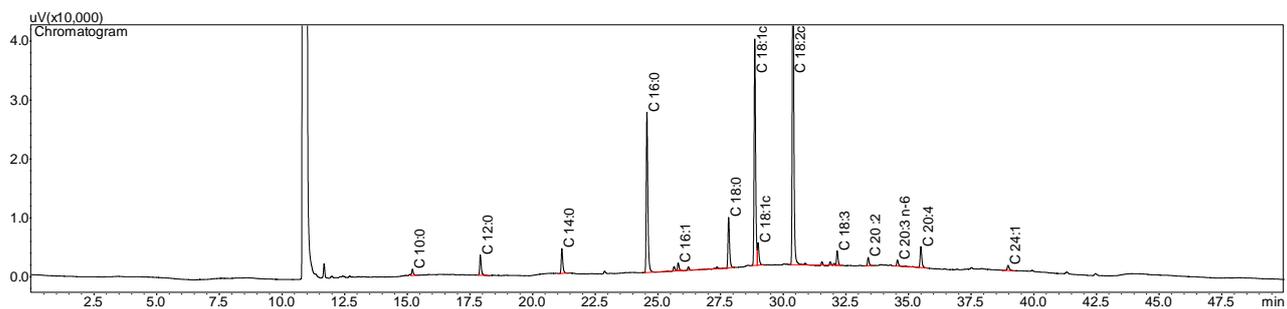
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.186 | 9451.2 | 0.9328 |
| 2 | C 12:0 | 17.907 | 31164.5 | 3.0760 |
| 3 | C 14:0 | 21.174 | 49004.8 | 4.8368 |
| 4 | C 16:0 | 24.582 | 208423.0 | 20.5715 |
| 5 | C 16:1 | 25.830 | -3753.2-0.3704 | |
| 6 | C 18:0 | 27.846 | 61010.5 | 6.0218 |
| 7 | C 18:1c | 28.894 | 228393.7 | 22.5427 |
| 8 | C 18:1c | 29.025 | 24436.5 | 2.4119 |
| 9 | C 18:2c | 30.419 | 342294.7 | 33.7848 |
| 10 | C 18:3 | 32.181 | 16449.5 | 1.6236 |
| 11 | C 20 :2 | 33.416 | 8682.4 | 0.8570 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.583 | 5880.0 | 0.5804 |
| 13 | C 20:4 | 35.517 | 23388.3 | 2.3084 |
| 14 | C 24:1 | 38.997 | 8335.9 | 0.8228 |

GI mama c4



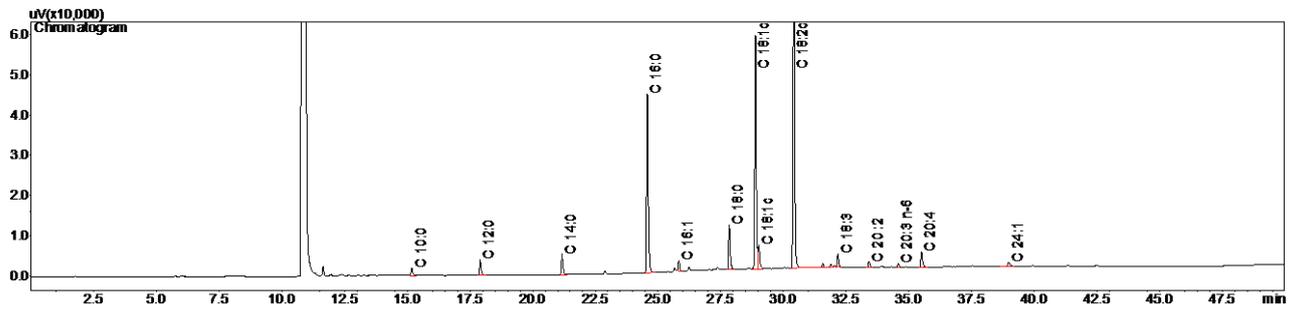
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.186 | 14617.0 | 0.8189 |
| 2 | C 12:0 | 17.906 | 31003.7 | 1.7370 |
| 3 | C 14:0 | 21.173 | 64023.4 | 3.5869 |
| 4 | C 16:0 | 24.586 | 337177.4 | 18.8904 |
| 5 | C 16:1 | 25.830 | 18639.3 | 1.0443 |
| 6 | C 18:0 | 27.849 | 95229.7 | 5.3352 |
| 7 | C 18:1c | 28.903 | 424838.8 | 23.8016 |
| 8 | C 18:1c | 29.028 | 43305.1 | 2.4262 |
| 9 | C 18:2c | 30.428 | 644614.5 | 36.1145 |
| 10 | C 18:3 | 32.180 | 30816.4 | 1.7265 |
| 11 | C 20 :2 | 33.415 | 11703.5 | 0.6557 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.583 | 15404.3 | 0.8630 |
| 13 | C 20:4 | 35.517 | 42629.4 | 2.3883 |
| 14 | C 24:1 | 38.996 | 10916.5 | 0.6116 |

GI mama c5



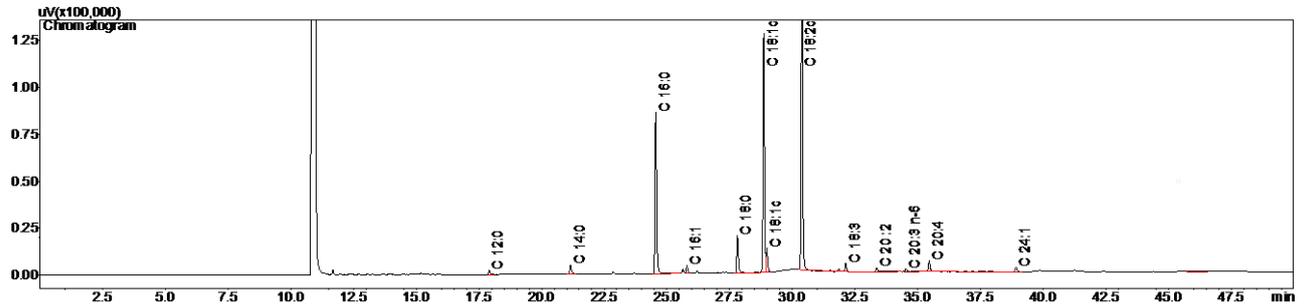
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.204 | 4709.0 | 0.7029 |
| 2 | C 12:0 | 17.914 | 15030.6 | 2.2436 |
| 3 | C 14:0 | 21.168 | 18624.0 | 2.7800 |
| 4 | C 16:0 | 24.561 | 122474.1 | 18.2816 |
| 5 | C 16:1 | 25.810 | 5047.9 | 0.7535 |
| 6 | C 18:0 | 27.822 | 38253.3 | 5.7100 |
| 7 | C 18:1c | 28.866 | 161651.1 | 24.1295 |
| 8 | C 18:1c | 28.999 | 17319.0 | 2.5852 |
| 9 | C 18:2c | 30.390 | 243859.9 | 36.4007 |
| 10 | C 18:3 | 32.154 | 10445.5 | 1.5592 |
| 11 | C 20 :2 | 33.390 | 6320.0 | 0.9434 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.558 | 4578.3 | 0.6834 |
| 13 | C 20:4 | 35.493 | 16793.8 | 2.5068 |
| 14 | C 24:1 | 38.974 | 4824.5 | 0.7201 |

GI mama dexa 6



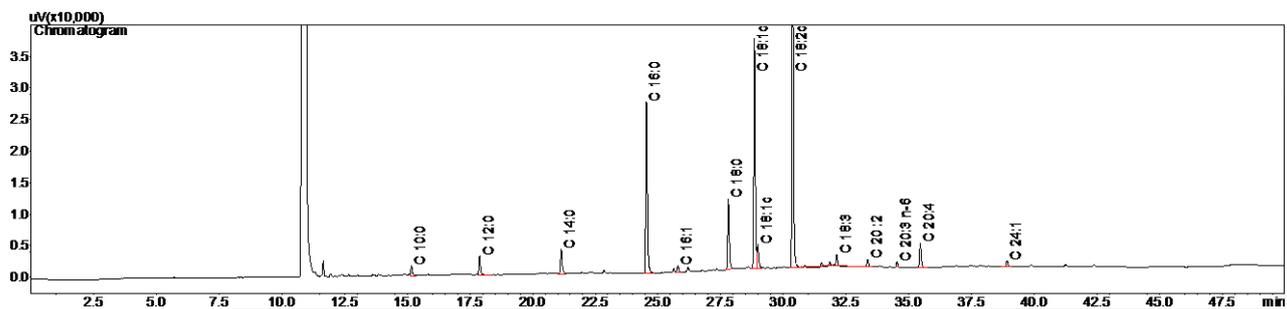
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.184 | 8970.9 | 0.9270 |
| 2 | C 12:0 | 17.905 | 18043.1 | 1.8645 |
| 3 | C 14:0 | 21.172 | 23491.6 | 2.4275 |
| 4 | C 16:0 | 24.576 | 197730.3 | 20.4326 |
| 5 | C 16:1 | 25.826 | 10698.6 | 1.1055 |
| 6 | C 18:0 | 27.840 | 51272.1 | 5.2982 |
| 7 | C 18:1c | 28.890 | 244956.2 | 25.3127 |
| 8 | C 18:1c | 29.021 | 26435.9 | 2.7318 |
| 9 | C 18:2c | 30.415 | 337482.4 | 34.8739 |
| 10 | C 18:3 | 32.178 | 13831.8 | 1.4293 |
| 11 | C 20 :2 | 33.411 | 5905.8 | 0.6103 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.580 | 3938.3 | 0.4070 |
| 13 | C 20:4 | 35.513 | 18534.5 | 1.9153 |
| 14 | C 24:1 | 38.992 | 6430.2 | 0.6645 |

GI mama dexa 7



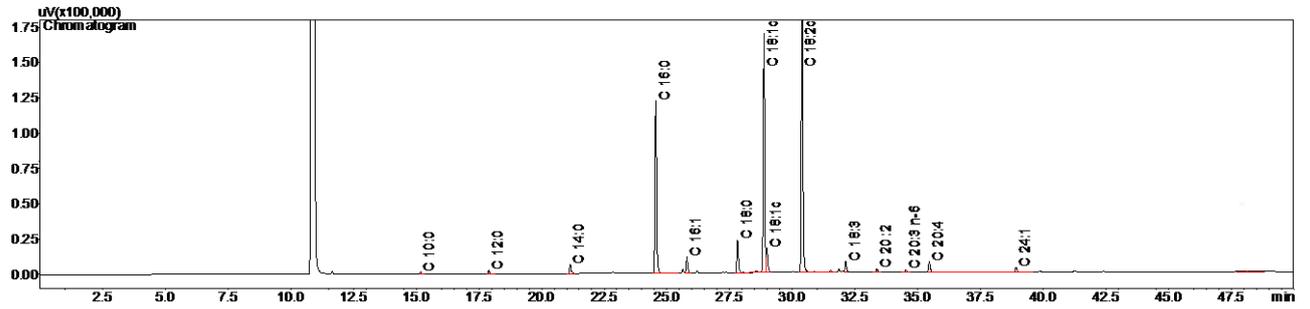
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 12:0 | 17.902 | 9884.4 | 0.5420 |
| 2 | C 14:0 | 21.153 | 24797.9 | 1.3599 |
| 3 | C 16:0 | 24.553 | 367906.0 | 20.1750 |
| 4 | C 16:1 | 25.792 | 15747.8 | 0.8636 |
| 5 | C 18:0 | 27.807 | 91838.5 | 5.0362 |
| 6 | C 18:1c | 28.862 | 524264.2 | 28.7492 |
| 7 | C 18:1c | 28.985 | 55329.8 | 3.0341 |
| 8 | C 18:2c | 30.381 | 669353.3 | 36.7055 |
| 9 | C 18:3 | 32.128 | 10924.0 | 0.5990 |
| 10 | C 20 :2 | 33.362 | 14995.9 | 0.8223 |
| 11 | C 20:3 n-6 | 34.524 | 4673.7 | 0.2563 |
| 12 | C 20:4 | 35.455 | 20388.3 | 1.1180 |
| 13 | C 24:1 | 38.921 | 13474.1 | 0.7389 |

GI mama dexta 8



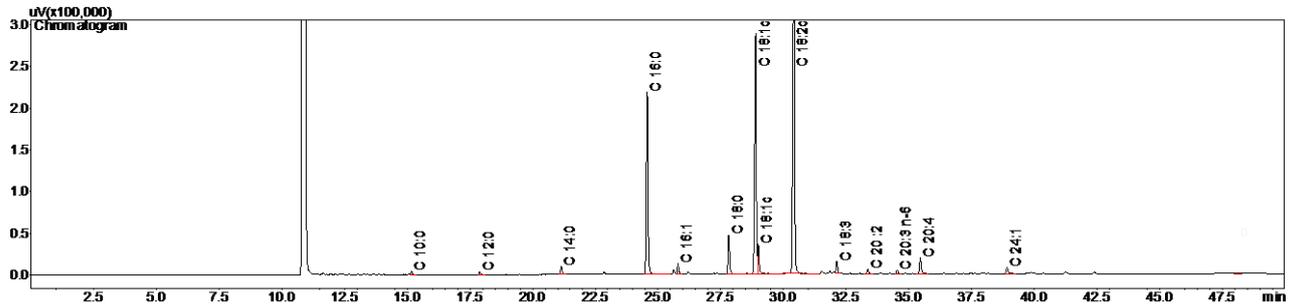
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.170 | 7883.7 | 1.2285 |
| 2 | C 12:0 | 17.883 | 14519.9 | 2.2626 |
| 3 | C 14:0 | 21.142 | 19986.0 | 3.1143 |
| 4 | C 16:0 | 24.540 | 120282.8 | 18.7432 |
| 5 | C 16:1 | 25.789 | 5297.5 | 0.8255 |
| 6 | C 18:0 | 27.805 | 49960.0 | 7.7851 |
| 7 | C 18:1c | 28.848 | 153479.7 | 23.9162 |
| 8 | C 18:1c | 28.981 | 16836.4 | 2.6236 |
| 9 | C 18:2c | 30.369 | 218163.2 | 33.9956 |
| 10 | C 18:3 | 32.131 | 2633.2 | 0.4103 |
| 11 | C 20 :2 | 33.366 | 5801.8 | 0.9041 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.528 | 2906.0 | 0.4528 |
| 13 | C 20:4 | 35.459 | 19083.3 | 2.9737 |
| 14 | C 24:1 | 38.924 | 4906.8 | 0.7646 |

GI mama dexa 9



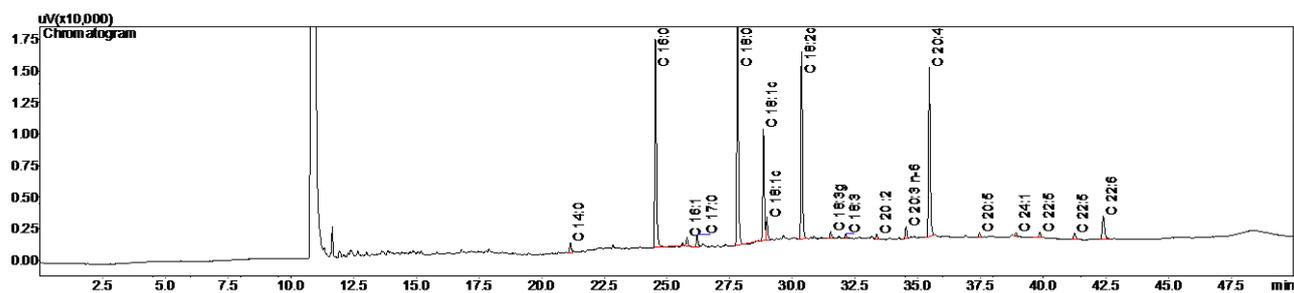
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.171 | 8152.2 | 0.3198 |
| 2 | C 12:0 | 17.884 | 12096.8 | 0.4746 |
| 3 | C 14:0 | 21.141 | 29434.0 | 1.1548 |
| 4 | C 16:0 | 24.555 | 521127.5 | 20.4450 |
| 5 | C 16:1 | 25.789 | 46418.4 | 1.8211 |
| 6 | C 18:0 | 27.810 | 109832.9 | 4.3090 |
| 7 | C 18:1c | 28.872 | 710017.0 | 27.8556 |
| 8 | C 18:1c | 28.990 | 70957.8 | 2.7838 |
| 9 | C 18:2c | 30.391 | 929547.0 | 36.4683 |
| 10 | C 18:3 | 32.132 | 30680.0 | 1.2036 |
| 11 | C 20 :2 | 33.366 | 12642.8 | 0.4960 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.529 | 10049.8 | 0.3943 |
| 13 | C 20:4 | 35.459 | 39972.3 | 1.5682 |
| 14 | C 24:1 | 38.925 | 17992.7 | 0.7059 |

GI mama dexta 10



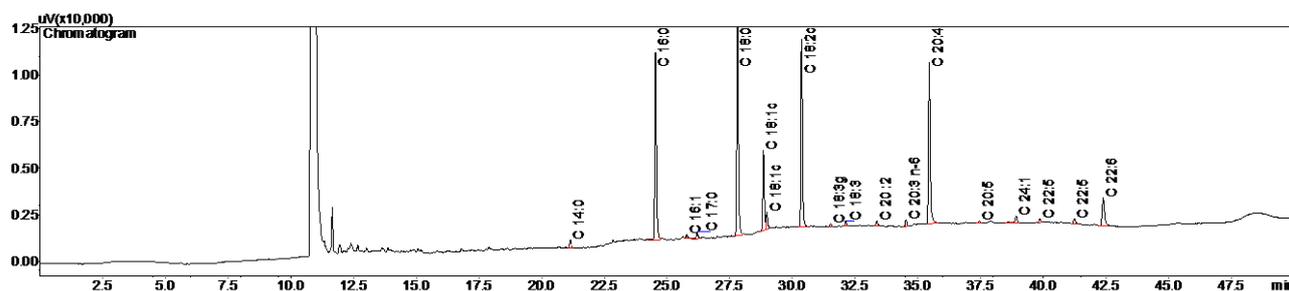
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|-----------|---------|
| 1 | C 10:0 | 15.169 | 18083.9 | 0.3674 |
| 2 | C 12:0 | 17.884 | 17860.9 | 0.3629 |
| 3 | C 14:0 | 21.142 | 45732.0 | 0.9292 |
| 4 | C 16:0 | 24.573 | 962427.6 | 19.5550 |
| 5 | C 16:1 | 25.791 | 50259.7 | 1.0212 |
| 6 | C 18:0 | 27.819 | 218200.4 | 4.4335 |
| 7 | C 18:1c | 28.895 | 1319471.4 | 26.8095 |
| 8 | C 18:1c | 29.002 | 136331.8 | 2.7700 |
| 9 | C 18:2c | 30.418 | 1913056.7 | 38.8702 |
| 10 | C 18:3 | 32.132 | 58079.6 | 1.1801 |
| 11 | C 20 :2 | 33.367 | 25662.4 | 0.5214 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.530 | 21799.8 | 0.4429 |
| 13 | C 20:4 | 35.460 | 95012.5 | 1.9305 |
| 14 | C 24:1 | 38.926 | 39678.4 | 0.8062 |

Fig controle 11



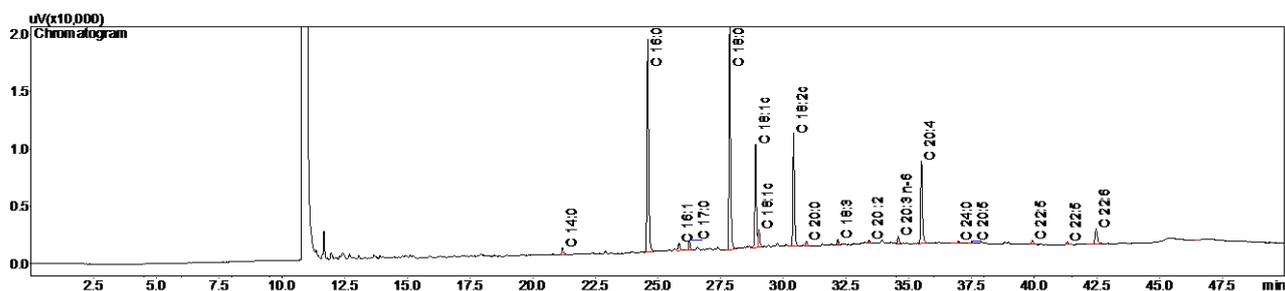
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.147 | 3738.6 | 1.0078 |
| 2 | C 16:0 | 24.542 | 71855.6 | 19.3691 |
| 3 | C 16:1 | 25.790 | 3021.0 | 0.8143 |
| 4 | C 17:0 | 26.202 | 4153.4 | 1.1196 |
| 5 | C 18:0 | 27.810 | 86952.0 | 23.4385 |
| 6 | C 18:1c | 28.848 | 37888.0 | 10.2130 |
| 7 | C 18:1c | 28.984 | 8091.8 | 2.1812 |
| 8 | C 18:2c | 30.368 | 62961.1 | 16.9716 |
| 9 | C 18:3g | 31.525 | 2094.4 | 0.5646 |
| 10 | C 18:3 | 32.134 | 1535.6 | 0.4139 |
| 11 | C 20 :2 | 33.364 | 1677.9 | 0.4523 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.529 | 4010.7 | 1.0811 |
| 13 | C 20:4 | 35.460 | 62482.0 | 16.8424 |
| 14 | C 20:5 | 37.458 | 1488.8 | 0.4013 |
| 15 | C 24:1 | 38.925 | 1375.2 | 0.3707 |
| 16 | C 22:5 | 39.876 | 2532.7 | 0.6827 |
| 17 | C 22:5 | 41.252 | 2715.5 | 0.7320 |
| 18 | C 22:6 | 42.396 | 12405.5 | 3.3440 |

Fig controle 12



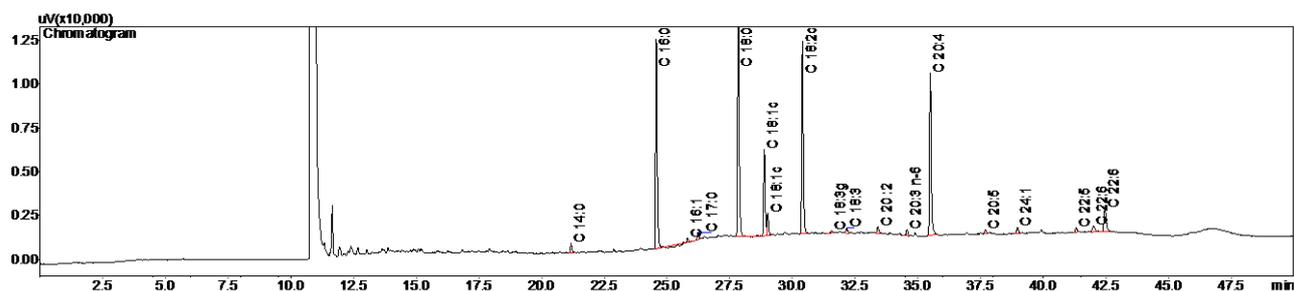
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.147 | 1922.4 | 0.8359 |
| 2 | C 16:0 | 24.542 | 44335.3 | 19.2785 |
| 3 | C 16:1 | 25.789 | 963.5 | 0.4190 |
| 4 | C 17:0 | 26.202 | 2084.9 | 0.9066 |
| 5 | C 18:0 | 27.809 | 53884.2 | 23.4307 |
| 6 | C 18:1c | 28.848 | 18496.0 | 8.0427 |
| 7 | C 18:1c | 28.984 | 3931.3 | 1.7095 |
| 8 | C 18:2c | 30.367 | 43049.3 | 18.7194 |
| 9 | C 18:3g | 31.526 | 592.3 | 0.2576 |
| 10 | C 18:3 | 32.134 | 1265.7 | 0.5504 |
| 11 | C 20 :2 | 33.366 | 1172.3 | 0.5097 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.529 | 1496.2 | 0.6506 |
| 13 | C 20:4 | 35.459 | 41805.5 | 18.1785 |
| 14 | C 20:5 | 37.461 | 547.9 | 0.2382 |
| 15 | C 24:1 | 38.926 | 2071.9 | 0.9009 |
| 16 | C 22:5 | 39.875 | 961.5 | 0.4181 |
| 17 | C 22:5 | 41.248 | 1614.2 | 0.7019 |
| 18 | C 22:6 | 42.395 | 9777.8 | 4.2517 |

Fig c 13



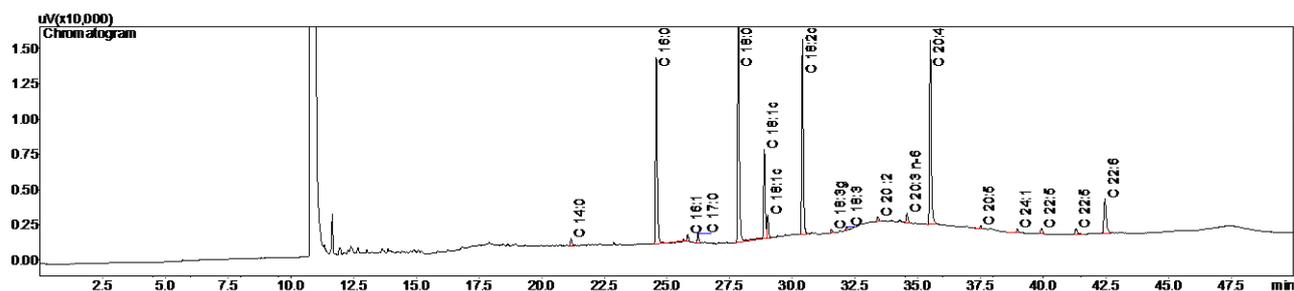
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.194 | 2658.0 | 0.8324 |
| 2 | C 16:0 | 24.590 | 80648.0 | 25.2558 |
| 3 | C 16:1 | 25.835 | 3491.2 | 1.0933 |
| 4 | C 17:0 | 26.250 | 3545.3 | 1.1103 |
| 5 | C 18:0 | 27.858 | 84749.8 | 26.5404 |
| 6 | C 18:1c | 28.892 | 38903.4 | 12.1831 |
| 7 | C 18:1c | 29.028 | 6882.7 | 2.1554 |
| 8 | C 18:2c | 30.409 | 41296.7 | 12.9325 |
| 9 | C 20:0 | 30.916 | 2014.9 | 0.6310 |
| 10 | C 18:3 | 32.173 | 1998.7 | 0.6259 |
| 11 | C 20 :2 | 33.414 | 1130.5 | 0.3540 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.575 | 2809.6 | 0.8799 |
| 13 | C 20:4 | 35.505 | 34854.7 | 10.9152 |
| 14 | C 24:0 | 36.981 | 990.6 | 0.3102 |
| 15 | C 20:5 | 37.519 | 1013.4 | 0.3174 |
| 16 | C 22:5 | 39.939 | 1973.6 | 0.6181 |
| 17 | C 22:5 | 41.320 | 1354.7 | 0.4242 |
| 18 | C 22:6 | 42.468 | 9008.0 | 2.8210 |

Fig c 14



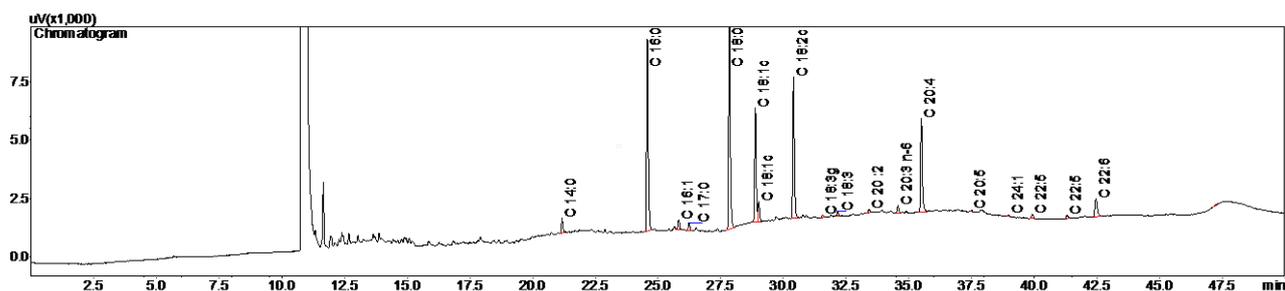
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.173 | 2268.1 | 0.9016 |
| 2 | C 16:0 | 24.573 | 48894.2 | 19.4367 |
| 3 | C 16:1 | 25.819 | 1086.1 | 0.4318 |
| 4 | C 17:0 | 26.237 | 1810.6 | 0.7198 |
| 5 | C 18:0 | 27.843 | 59914.1 | 23.8174 |
| 6 | C 18:1c | 28.881 | 21125.1 | 8.3978 |
| 7 | C 18:1c | 29.019 | 5649.9 | 2.2460 |
| 8 | C 18:2c | 30.402 | 46359.0 | 18.4289 |
| 9 | C 18:3g | 31.560 | 640.3 | 0.2545 |
| 10 | C 18:3 | 32.169 | 1380.5 | 0.5488 |
| 11 | C 20:2 | 33.405 | 1774.6 | 0.7054 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.568 | 1754.1 | 0.6973 |
| 13 | C 20:4 | 35.501 | 43601.0 | 17.3325 |
| 14 | C 20:5 | 37.703 | 1103.1 | 0.4385 |
| 15 | C 24:1 | 38.982 | 1918.4 | 0.7626 |
| 16 | C 22:5 | 41.314 | 1524.7 | 0.6061 |
| 17 | C 22:6 | 42.012 | 2408.9 | 0.9576 |
| 18 | C 22:6 | 42.463 | 8343.1 | 3.3166 |

Fig c 15



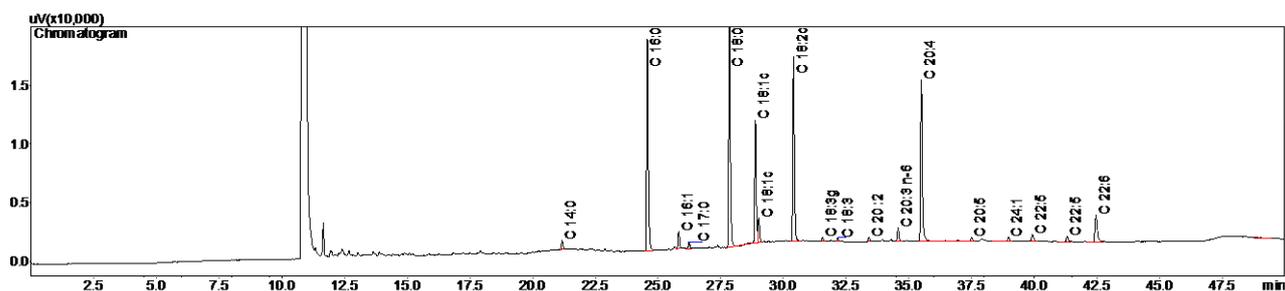
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.173 | 2584.7 | 0.7759 |
| 2 | C 16:0 | 24.574 | 57393.6 | 17.2291 |
| 3 | C 16:1 | 25.823 | 1877.6 | 0.5636 |
| 4 | C 17:0 | 26.236 | 3101.7 | 0.9311 |
| 5 | C 18:0 | 27.845 | 83390.6 | 25.0332 |
| 6 | C 18:1c | 28.882 | 26811.1 | 8.0485 |
| 7 | C 18:1c | 29.019 | 7193.6 | 2.1595 |
| 8 | C 18:2c | 30.402 | 58450.3 | 17.5463 |
| 9 | C 18:3g | 31.561 | 1197.9 | 0.3596 |
| 10 | C 18:3 | 32.168 | 1103.4 | 0.3312 |
| 11 | C 20:2 | 33.407 | 1629.8 | 0.4893 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.569 | 2989.2 | 0.8973 |
| 13 | C 20:4 | 35.502 | 61988.3 | 18.6084 |
| 14 | C 20:5 | 37.516 | 1070.2 | 0.3213 |
| 15 | C 24:1 | 38.982 | 1348.2 | 0.4047 |
| 16 | C 22:5 | 39.933 | 2128.7 | 0.6390 |
| 17 | C 22:5 | 41.314 | 2622.1 | 0.7871 |
| 18 | C 22:6 | 42.463 | 16239.0 | 4.8748 |

Fig dexa 16



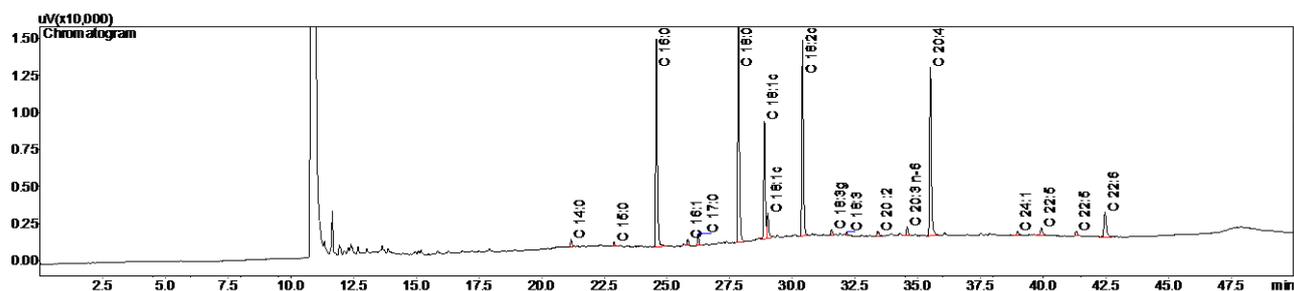
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.174 | 2683.3 | 1.6336 |
| 2 | C 16:0 | 24.576 | 35719.9 | 21.7465 |
| 3 | C 16:1 | 25.824 | 2038.3 | 1.2409 |
| 4 | C 17:0 | 26.238 | 1352.3 | 0.8233 |
| 5 | C 18:0 | 27.845 | 41372.4 | 25.1878 |
| 6 | C 18:1c | 28.884 | 20962.1 | 12.7618 |
| 7 | C 18:1c | 29.020 | 3835.4 | 2.3350 |
| 8 | C 18:2c | 30.403 | 25954.8 | 15.8015 |
| 9 | C 18:3g | 31.565 | 480.5 | 0.2925 |
| 10 | C 18:3 | 32.172 | 875.7 | 0.5331 |
| 11 | C 20:2 | 33.409 | 606.1 | 0.3690 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.571 | 1521.9 | 0.9265 |
| 13 | C 20:4 | 35.503 | 19465.7 | 11.8508 |
| 14 | C 20:5 | 37.516 | 324.3 | 0.1974 |
| 15 | C 24:1 | 38.988 | 359.4 | 0.2188 |
| 16 | C 22:5 | 39.932 | 801.7 | 0.4881 |
| 17 | C 22:5 | 41.320 | 722.3 | 0.4397 |
| 18 | C 22:6 | 42.464 | 5179.7 | 3.1535 |

Fig dexa 17



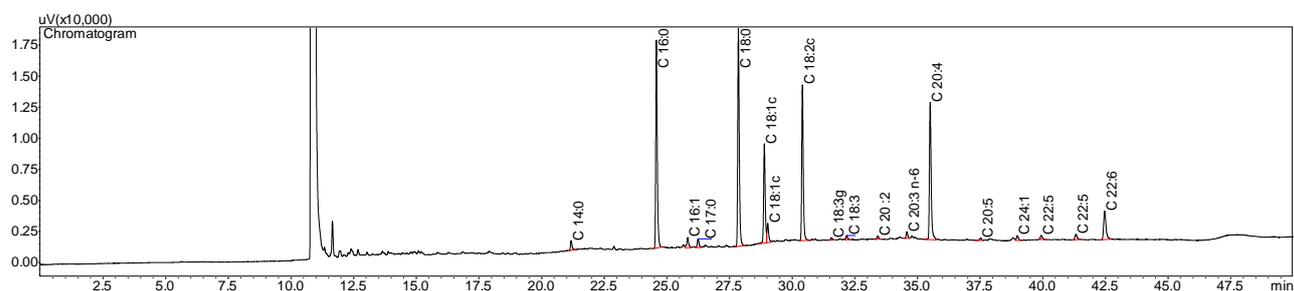
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.176 | 3211.8 | 0.8019 |
| 2 | C 16:0 | 24.576 | 78884.9 | 19.6941 |
| 3 | C 16:1 | 25.825 | 6139.9 | 1.5329 |
| 4 | C 17:0 | 26.240 | 2606.1 | 0.6506 |
| 5 | C 18:0 | 27.849 | 89095.3 | 22.2433 |
| 6 | C 18:1c | 28.885 | 44409.3 | 11.0871 |
| 7 | C 18:1c | 29.021 | 9376.3 | 2.3409 |
| 8 | C 18:2c | 30.404 | 66407.5 | 16.5791 |
| 9 | C 18:3g | 31.561 | 1607.8 | 0.4014 |
| 10 | C 18:3 | 32.171 | 1046.1 | 0.2612 |
| 11 | C 20:2 | 33.409 | 1454.5 | 0.3631 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.572 | 5389.1 | 1.3454 |
| 13 | C 20:4 | 35.503 | 65050.6 | 16.2403 |
| 14 | C 20:5 | 37.514 | 1779.4 | 0.4442 |
| 15 | C 24:1 | 38.984 | 1901.4 | 0.4747 |
| 16 | C 22:5 | 39.935 | 3868.8 | 0.9659 |
| 17 | C 22:5 | 41.318 | 2822.4 | 0.7046 |
| 18 | C 22:6 | 42.464 | 15498.7 | 3.8694 |

Fig dexa 18



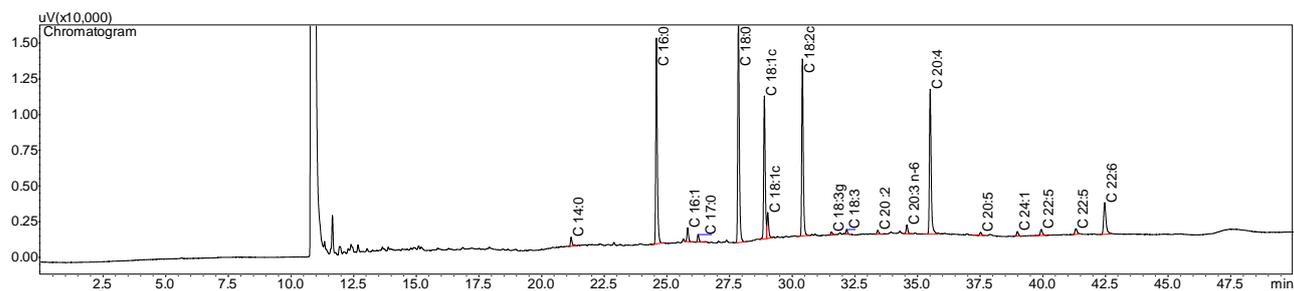
| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.177 | 2002.0 | 0.6257 |
| 2 | C 15:0 | 22.885 | 799.5 | 0.2499 |
| 3 | C 16:0 | 24.577 | 61555.2 | 19.2392 |
| 4 | C 16:1 | 25.825 | 1678.1 | 0.5245 |
| 5 | C 17:0 | 26.240 | 3219.2 | 1.0062 |
| 6 | C 18:0 | 27.850 | 73058.7 | 22.8347 |
| 7 | C 18:1c | 28.886 | 34486.8 | 10.7789 |
| 8 | C 18:1c | 29.023 | 8039.1 | 2.5126 |
| 9 | C 18:2c | 30.405 | 55991.1 | 17.5001 |
| 10 | C 18:3g | 31.563 | 1633.5 | 0.5105 |
| 11 | C 18:3 | 32.172 | 770.6 | 0.2409 |
| 12 | C 20:2 | 33.408 | 1513.6 | 0.4731 |
| 13 | C 20:3 n-6 | 34.573 | 2955.0 | 0.9236 |
| 14 | C 20:4 | 35.504 | 54891.1 | 17.1564 |
| 15 | C 24:1 | 38.985 | 1525.0 | 0.4766 |
| 16 | C 22:5 | 39.936 | 2914.7 | 0.9110 |
| 17 | C 22:5 | 41.318 | 1548.7 | 0.4841 |
| 18 | C 22:6 | 42.466 | 11364.3 | 3.5520 |

Fig dexa 19



| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.178 | 3479.4 | 1.0361 |
| 2 | C 16:0 | 24.579 | 71746.7 | 21.3641 |
| 3 | C 16:1 | 25.828 | 4413.7 | 1.3143 |
| 4 | C 17:0 | 26.243 | 3304.9 | 0.9841 |
| 5 | C 18:0 | 27.852 | 75807.6 | 22.5733 |
| 6 | C 18:1c | 28.887 | 34913.4 | 10.3962 |
| 7 | C 18:1c | 29.024 | 7314.9 | 2.1782 |
| 8 | C 18:2c | 30.406 | 52932.5 | 15.7618 |
| 9 | C 18:3g | 31.566 | 932.1 | 0.2775 |
| 10 | C 18:3 | 32.173 | 1447.5 | 0.4310 |
| 11 | C 20:2 | 33.412 | 1314.8 | 0.3915 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.575 | 2226.1 | 0.6629 |
| 13 | C 20:4 | 35.505 | 53144.5 | 15.8249 |
| 14 | C 20:5 | 37.518 | 1255.6 | 0.3739 |
| 15 | C 24:1 | 38.983 | 2170.0 | 0.6462 |
| 16 | C 22:5 | 39.936 | 1901.8 | 0.5663 |
| 17 | C 22:5 | 41.319 | 2656.9 | 0.7911 |
| 18 | C 22:6 | 42.466 | 14866.2 | 4.4267 |

Fig dexa 20



| Peak# | Compound Name | Ret.Time | Area | Area% |
|-------|---------------|----------|---------|---------|
| 1 | C 14:0 | 21.179 | 2845.0 | 0.8843 |
| 2 | C 16:0 | 24.580 | 62086.4 | 19.2980 |
| 3 | C 16:1 | 25.828 | 4165.2 | 1.2946 |
| 4 | C 17:0 | 26.244 | 2136.0 | 0.6639 |
| 5 | C 18:0 | 27.853 | 69285.6 | 21.5357 |
| 6 | C 18:1c | 28.889 | 42831.6 | 13.3131 |
| 7 | C 18:1c | 29.025 | 8164.8 | 2.5378 |
| 8 | C 18:2c | 30.407 | 52186.1 | 16.2207 |
| 9 | C 18:3g | 31.567 | 1050.3 | 0.3265 |
| 10 | C 18:3 | 32.173 | 1270.5 | 0.3949 |
| 11 | C 20 :2 | 33.412 | 1381.7 | 0.4295 |
| 12 | C 20:3 n-6 | 34.575 | 2861.4 | 0.8894 |
| 13 | C 20:4 | 35.505 | 49087.8 | 15.2577 |
| 14 | C 20:5 | 37.517 | 1166.1 | 0.3624 |
| 15 | C 24:1 | 38.988 | 1608.7 | 0.5000 |
| 16 | C 22:5 | 39.940 | 2818.7 | 0.8761 |
| 17 | C 22:5 | 41.320 | 2418.1 | 0.7516 |
| 18 | C 22:6 | 42.466 | 14361.0 | 4.4637 |

9- ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética para realização do estudo.



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **Efeitos do excesso de glicocorticóides pré-natal sobre o metabolismo hepático materno**, registrada com o nº **4221-1**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Gabriel Forato Anhe / Filipe De Paula Nunes Mesquita**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)**, tendo sido aprovada pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em **28 de abril de 2016**.

| | |
|--|--------------------------------------|
| Finalidade: | () Ensino (X) Pesquisa Científica |
| Vigência do projeto: | 01/06/2016-01/08/2019 |
| Vigência da autorização para manipulação animal: | 01/06/2016-01/08/2019 |
| Espécie / linhagem/ raça: | Rato heterogênico / HanUnib: WH |
| No. de animais: | 210 |
| Peso / Idade: | 04 semanas / 130gfêmeas |
| Sexo: | 30 machos / 180 fêmeas |
| Origem: | CEMIB/UNICAMP |

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao **IBAMA, SISBIO** ou **CIBio**.

Campinas, 28 de abril de 2016.

Prof. Dra. Liana Maria Cardoso Verinaud
Presidente

Fátima Alonso
Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.



Article

In Utero Dexamethasone Exposure Exacerbates Hepatic Steatosis in Rats That Consume Fructose During Adulthood

Tanyara B. Payolla ¹, Caio J. Teixeira ², Fabio T. Sato ¹, Gilson M. Murata ¹, Gizela A. Zonta ¹, Frhancielly S. Sodré ¹, Carolina V. Campos ¹, Filipe N. Mesquita ², Gabriel F. Anê ² and Silvana Bordin ^{1,*}

¹ Department of Physiology and Biophysics, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo 05508-000, Brazil

² Department of Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas, Sao Paulo 13083-887, Brazil

* Correspondence: sbordin@icb.usp.br; Tel.: +55-11-3091-7245

Received: 12 July 2019; Accepted: 21 August 2019; Published: 5 September 2019



Abstract: Distinct environmental insults might interact with fructose consumption and contribute to the development of metabolic disorders. To address whether in utero glucocorticoid exposure and fructose intake modulate metabolic responses, adult female Wistar rats were exposed to dexamethasone (DEX) during pregnancy, and the offspring were administered fructose at a later time. Briefly, dams received DEX during the third period of pregnancy, while control dams remained untreated. Offspring born to control and DEX-treated mothers were defined as CTL-off and DEX-off, respectively, while untreated animals were designated CTL-off-CTL and DEX-off-CTL. CTL-off and DEX-off treated with 10% fructose in the drinking water for 8 weeks are referred to as CTL-off-FRU and DEX-off-FRU. We found that fructose promoted glucose intolerance and whole-body gluconeogenesis in both CTL-off-FRU and DEX-off-FRU animals. On the other hand, hepatic lipid accumulation was significantly stimulated in DEX-off-FRU rats when compared to the CTL-off-FRU group. The DEX-off-FRU group also displayed impaired very-low-density lipoprotein (VLDL) production and reduced hepatic expression of *apoB*, *mttp*, and *sec22b*. DEX-off-FRU has lower hepatic levels of autophagy markers. Taken together, our results support the unprecedented notion that in utero glucocorticoid exposure exacerbates hepatic steatosis caused by fructose consumption later in life.

Keywords: fructose; hepatic steatosis; glucocorticoids; pregnancy; DOHaD

Anexo 3 – Artigo submetido em colaboração no periódico Acta Physiologica

ACTA PHYSIOLOGICA

Antenatal corticosteroid therapy modulates lipid metabolism in the lactating rat through a PPAR- γ -dependent mechanism

| | |
|-------------------------------|--|
| Journal: | <i>Acta Physiologica</i> |
| Manuscript ID | APH-2020-04-0236 |
| Manuscript Type: | Regular Paper |
| Date Submitted by the Author: | 15-Apr-2020 |
| Complete List of Authors: | Hecht, Fernanda; State University of Campinas, Pharmacology Teixeira, Calo; State University of Campinas, Pharmacology de Souza, Dailson; State University of Campinas, Pharmacology Mesquita, Filipe; State University of Campinas, Pharmacology Roso, Ryana; State University of Campinas, Obstetrics and Gynecology Veronesi, Vanessa; State University of Campinas, Pharmacology da Rocha, Deborah; State University of Campinas, Obstetrics and Gynecology de Menezes, Yan; State University of Campinas, Obstetrics and Gynecology Santos-Silva, Junia ; Universidade Estadual de Campinas, Biologia Funcional e Molecular Pioli, Mariana; State University of Campinas, Pharmacology Bordin, Silvana; University of Sao Paulo, Physiology and Biophysics Cecatti, José; State University of Campinas, Obstetrics and Gynecology Luz, Adriana; State University of Campinas, Obstetrics and Gynecology Anhê, Gabriel; State University of Campinas, Pharmacology |
| Key Words: | Glucocorticoids, Lactation, Lipid metabolism, Mammary gland, Milk triacylglycerol, PPAR- γ |
| | |